



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
BIOMEDICHE**

Direttore della Scuola: Prof. Andrea Fausto Piana

**INDIRIZZO IN FISIOLOGIA, MORFOLOGIA E
FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE**

XXVIII CICLO

*WHOLE EXOME SEQUENCING IN
NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS:
STUDY OF 10 FAMILIES OF SARDINIAN ORIGIN.*

Direttore:

Prof. Andrea Fausto Piana

Tutor:

Prof. Stefano Sotgiu

Tesi di dottorato di:

Dott. ssa Chiara Perria

Anno Accademico 2014 - 2015

1. INTRODUZIONE	Pag. 1
2. I DISORDINI DEL NEUROSVILUPPO	Pag. 2
2.1. La Disabilità Intellettiva	Pag. 5
2.1.1. Caratteristiche diagnostiche	Pag. 11
2.1.2. Epidemiologia	Pag. 14
2.1.3. Etiopatogenesi	Pag. 15
2.2 I Disordini dello Spettro dell'Autismo	Pag. 18
2.2.1. Caratteristiche diagnostiche	Pag. 18
2.2.2. Epidemiologia	Pag. 23
2.2.3. Classificazione ed Etiopatogenesi	Pag. 23
3. LA GENETICA DEI DISORDINI DEL NEUROSVILUPPO	Pag. 33
3.1. L'architettura genetica dei Disordini del Neurosviluppo	Pag. 34
3.1.1. Le Sindromi	Pag. 35
3.1.2. Le anomalie cromosomiche	Pag. 35
3.1.3. Le sindromi da microdelezione o sindromi da geni contigui	Pag. 37
3.1.4. Le anomalie di singoli geni	Pag. 40
3.1.5. Le anomalie epigenetiche	Pag. 43
4. LE SINDROMI MALFORMATIVE	Pag. 47
4.1. Come e quando sospettare una Sindrome?	Pag. 48
5. LA DISMORFOLOGIA	Pag. 50
5.1. Human Phenotype Ontology	Pag. 53
6. PERCORSO DIAGNOSTICO-TERAPEUTICO-ASSISTENZIALE	Pag. 57
6.1. Gli esami genetici: microarray cromosomici	Pag. 60
6.2. Gli esami genetici di nuova generazione	Pag. 64
6.3. Il progetto assistenziale	Pag. 65
Conclusioni dell'introduzione	Pag. 66
7. SCOPO DELLO STUDIO	Pag. 68
8. MATERIALI E METODI	Pag. 69
Caratteristiche del sequenziamento	Pag. 71

9. RISULTATI	Pag. 75
9.1. I risultati clinici	Pag. 76
Famiglia 1	Pag. 76
Famiglia 2	Pag. 78
Famiglia 3	Pag. 81
Famiglia 4	Pag. 83
Famiglia 5	Pag. 87
Famiglia 15	Pag. 91
Famiglia 16	Pag. 92
Famiglia 18	Pag. 94
Famiglia 21	Pag. 95
Famiglia 22	Pag. 98
9.2. I risultati del Laboratorio	Pag. 100
9.2.1. Varianti riscontrate nelle famiglie coinvolte nello studio	Pag. 104
Famiglia 2	Pag. 104
Famiglia 15	Pag. 105
Famiglia 21	Pag. 106
10. DISCUSSIONE	Pag. 109
11. CONCLUSIONI	Pag. 116
ALLEGATO 1: Consenso informato all'esecuzione dello studio	Pag. 118
ALLEGATO 2: Tabelle riassuntive delle notizie anamnestiche e delle valutazioni cliniche, strumentali e genetiche eseguite sulle Famiglie coinvolte nello studio	Pag. 129
ALLEGATO 3: Schede Phenomizer dei soggetti coinvolti nello studio	Pag. 137
BIBLIOGRAFIA	Pag. 138
RINGRAZIAMENTI	Pag. 143

1. INTRODUZIONE

Sia il Ritardo Mentale o Disabilità Intellettiva (RM/DI) che i disordini dello spettro autistico (DSA) sono disordini del neurosviluppo la cui eziologia rimane purtroppo molto spesso sconosciuta.

Centrale al concetto di disordine dello sviluppo è la deviazione dal normale sviluppo, deviazione che diventa apparente durante la prima infanzia. Nella letteratura medica non è ancora del tutto specificata l'esatta natura di questa deviazione per cui con il termine di disordine dello sviluppo si intende un *range* abbastanza ampio di condizioni riferito non solo al ritardo di sviluppo e/o Disabilità Intellettiva ma anche ad altre condizioni quali il disturbo del linguaggio, i disordini dello sviluppo della coordinazione, il disordine dello Spettro Autistico e l'ADHD.

In questa tesi usiamo il termine in maniera restrittiva e ci riferiamo esclusivamente alla DI e al DSA.

Entrambe queste patologie nel loro insieme colpiscono circa il 3% della popolazione, richiedono spesso in comorbidità l'intervento del neuropsichiatra e spesso ricorrono in comorbidità anche con altre patologie prima fra tutte l'epilessia.

Circa il 70% circa dei pazienti affetti da DSA presentano DI, mentre l'epilessia si verifica nel 25% circa (Baird et Al, 2006; Tuchman e Rapin, 2002).

Sono causa frequente di disabilità, il cui esordio avviene in epoca precoce e dura per tutta la vita, e di importanti limitazioni nella vita quotidiana per la persona affetta e per l'intero nucleo familiare.

Presenti in tutte le popolazioni e in ogni classe sociale, sono fonte di importanti costi assistenziali per la società. Per entrambe le patologie non è ancora possibile una cura e questo dipende principalmente dal fatto che rimangono ancora non del tutto conosciuti i meccanismi biologici che le sottendono.

Rispetto, comunque, ai passati decenni ci sono stati importanti progressi nell'identificazione delle cause genetiche e questo apre nuove speranze nella comprensione e nelle prospettive di cura.

Hanno un alto grado di ereditabilità, come detto si verificano o come singola entità o in combinazione o anche associati a sindromi genetiche definite.

Entrambi presentano un alto grado di complessità genetica e condividono il rischio genetico come suggerito:

- dall'*overlap* fenotipico: il 50% dei DSA ha un QI al di sotto di 70 e molti individui con RM presentano sintomi dello spettro autistico.
- dall'osservazione che stesse mutazioni genetiche sono causali sia del DSA che dei R

M senza disabilità sociale

- dalle segnalazioni in letteratura di suscettibilità genetiche del DSA riscontrate anche nei RM.

2. I DISORDINI DEL NEUROSVILUPPO

I disturbi del neurosviluppo sono un gruppo di condizioni con esordio nel periodo dello sviluppo. I disturbi si manifestano tipicamente nelle prime fasi dello sviluppo, spesso prima che il bambino inizi la scuola elementare, e sono caratterizzati da deficit dello sviluppo che causa una compromissione del funzionamento personale, sociale, scolastico e lavorativo. Il range dei deficit dello sviluppo varia da limitazioni molto specifiche dell'apprendimento o del controllo delle funzioni esecutive fino alla compromissione globale delle abilità sociali o dell'intelligenza.

I disturbi del neurosviluppo si presentano spesso in concomitanza: ad esempio individui con Disturbo dello Spettro dell'Autismo spesso presentano Disabilità Intellettiva, e molti bambini con Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività (DDAI) hanno anche un Disturbo Specifico dell'Apprendimento. In alcuni disturbi il quadro clinico comprende sintomi di eccesso, ma anche deficit e ritardi nel raggiungimento delle tappe dello sviluppo attese.

Nel Disturbo dello Spettro dell'Autismo, la diagnosi viene posta quando i caratteristici deficit della comunicazione sociale e dell'interazione sociale sono accompagnati da comportamenti o interessi eccessivamente ripetitivi e da attività limitate. Sono presenti deficit della reciprocità sociale, della comunicazione non verbale utilizzata per l'interazione sociale, e delle abilità di sviluppare, mantenere e comprendere le relazioni interpersonali. Poiché i sintomi cambiano con lo sviluppo e e possono essere mascherati da meccanismi compensatori, i criteri diagnostici possono essere soddisfatti sulla base di informazioni anamnestiche. Nella diagnosi di Disturbo dello Spettro dell'Autismo, le caratteristiche cliniche individuali vengono registrate mediante l'uso di specificatori (con o senza compromissione intellettiva associata; con o senza compromissione del linguaggio associata; associato a condizione medica/genetica nota o a condizioni ambientali/acquisite) e di specificatori che descrivono i sintomi autistici (età del primo interessamento clinico; con o senza perdita di abilità acquisite; gravità). Questi specificatori danno ai clinici la possibilità di formulare la diagnosi e di comunicare una descrizione clinica più dettagliata degli individui affetti. Per esempio, un individuo che, sulla base dei criteri del DSM-IV aveva ricevuto una diagnosi di Sindrome di Asperger, ora riceverebbero una diagnosi di Disturbo dello Spettro dell'Autismo senza compromissione del linguaggio o intellettiva.

La diagnosi di Disabilità Intellettiva invece è caratterizzata da deficit delle capacità mentali generali, come il ragionamento, il problem solving, la pianificazione, il pensiero astratto, la capacità di giudizio, l'apprendimento scolastico e l'apprendimento dall'esperienza. I deficit comportano una compromissione del funzionamento adattivo tale che l'individuo risulta incapace di soddisfare gli standard di autonomia e di responsabilità sociale in uno o più aspetti della vita quotidiana, comprese la comunicazione, la partecipazione sociale, l'attività scolastica o lavorativa, l'autonomia a casa o in comunità.

Il Ritardo Globale dello Sviluppo, come suggerisce il termine, viene diagnosticato quando un individuo non riesce a raggiungere le tappe attese dallo sviluppo in diverse aree del funzionamento intellettuale. La diagnosi viene utilizzata per individui incapaci di sottoporsi a valutazioni sistematiche del funzionamento intellettuale, compresi pertanto i bambini che sono troppo piccoli per partecipare a test standardizzati.

Rientrano all'interno dei disturbi del neurosviluppo anche:

- *Disturbo da Deficit di Attenzione e Iperattività (DDAI)*: caratterizzato da livelli invalidanti di disattenzione, disorganizzazione e/o iperattività/impulsività. Durante la fanciullezza il DDAI si sovrappone frequentemente a disturbi spesso ritenuti "disturbi esternalizzanti", come il disturbo oppositivo-provocatorio e il disturbo della condotta. IL DDAI spesso persiste nell'età adulta, con conseguente compromissione del funzionamento sociale, scolastico e lavorativo.
- *Disturbo Specifico dell'Apprendimento*: caratterizzato da deficit specifici delle abilità di un individuo di percepire o elaborare informazioni in maniera efficiente e accurata. Si manifesta la prima volta durante gli anni di formazione scolastica con persistenti e progressive difficoltà nell'apprendere le abilità scolastiche di base nell'ambito della lettura, scrittura e calcolo. La prestazione nelle abilità scolastiche del bambino è pertanto al di sotto della media per età o è in grado di raggiungere livelli accettabili solo attraverso sforzi straordinari. Il disturbo specifico dell'apprendimento può presentarsi in individui intellettivamente dotati e può manifestarsi solo nel momento in cui le esigenze di apprendimento o le procedure di valutazione diagnostica (per es. prove cronometrate) pongono delle barriere che non possono essere superate dall'intelligenza e dalle strategie compensatorie. Il disturbo può dar luogo a compromissioni permanenti di quelle attività che dipendono dalle abilità coinvolte, comprese le prestazioni lavorative.
- *Disturbi del Movimento* che comprendono:

1. *Disturbo dello Sviluppo della Coordinazione*: caratterizzato da deficit dell'acquisizione dell'esecuzione delle abilità motorie coordinate e si manifesta con goffaggine e lentezza o imprecisione nello svolgimento delle abilità motorie che interferiscono con le attività della vita quotidiana.
 2. *Disturbo da Movimento Stereotipato*: viene diagnosticato quando un individuo presenta comportamenti motori ripetitivi, apparentemente intenzionali e afinalistici, come scuotere le mani, dondolarsi, battersi la testa, mordersi o colpirsi. I movimenti interferiscono con le attività sociali, scolastiche o di altro tipo.
 3. *Disturbi da Tic*: caratterizzati dalla presenza di tic motori o vocali, che sono movimenti stereotipati o vocalizzazioni improvvisi, rapidi, ricorrenti e non ritmici. La durata, la presunta etiologia e il quadro clinico definiscono meglio la diagnosi: disturbo di Tourette, disturbo persistente (cronico) da tic motori o vocali, disturbo transitorio da tic, disturbo da tic con altra specificazione e disturbo da tic senza specificazione.
- *Disturbi della Comunicazione*: si manifestano precocemente, possono produrre danni funzionali permanenti e comprendono:
1. *Disturbo fonetico fonologico*
 2. *Disturbo della comunicazione sociale (pragmatica)*
 3. *Disturbo della fluenza con esordio nell'infanzia (balbuzie)*

L'introduzione nel DSM-V degli specificatori arricchisce la descrizione clinica del decorso clinico e della sintomatologia del soggetto. Nel caso dei disordini del neurosviluppo, gli specificatori sono: l'età di esordio, la gravità, e lo specificatore "associato a una condizione medica o genetica nota o ad un fattore ambientale", che permette di documentare l'etiologia del disturbo e i fattori che influenzano il decorso clinico (ad es. disturbi genetici come la Sindrome dell'X Fragile, la Sclerosi tuberosa e la Sindrome di Rett; condizioni mediche come l'epilessia; fattori ambientali come il basso peso alla nascita e l'esposizione fetale all'alcool).

In questa tesi non verranno trattati il Disturbo Specifico dell'Apprendimento, i Disturbi del Movimento né i Disturbi della Comunicazione. Verranno invece esaminati in maniera più dettagliata il Ritardo Mentale ed il Disturbo dello Spettro Autistico.

2.1. La Disabilità Intellettiva.

Il termine Disabilità Intellettiva (DI) o *Intellectual Disability* degli autori anglosassoni, ha sostituito il termine Ritardo Mentale ed è l'equivalente di "Disturbi dello Sviluppo Intellettivo", adottato nella bozza dell'ICD-11¹.

Rappresenta una condizione clinica frequente, una delle cause più frequenti di consultazione e uno dei più importanti problemi non risolti della sanità pubblica. La DI è una importante disabilità complessa, la causa più frequente di handicap in età pediatrica nei paesi sviluppati, che coinvolge molti ambiti del funzionamento di una persona e che comporta limitazioni sul grado di autonomia di vita con susseguente necessità di importanti bisogni assistenziali. La DI, infatti, oltre ad essere fonte di sofferenza emotiva e sociale per l'intero nucleo familiare ha un importante costo assistenziale per la vita della persona affetta stimato in circa 1 milione di dollari (Economic CDC).

E' una disabilità di grado variabile che interessa, per tutta la durata della vita, un elevato numero di persone, compromettendone l'autonomia, determinando importanti domande di assistenza non solo ai servizi sanitari ma anche alla società nel suo complesso e richiede l'investimento di ingenti risorse umane e finanziarie.

Secondo il DSM V, l'American Association on Mental Retardation (AAMR), l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e la American Psychiatry Association (APA), la Disabilità Intellettiva (Disturbo dello Sviluppo Intellettivo) è un disturbo con esordio nel periodo dello sviluppo che comprende deficit del funzionamento sia intellettivo che adattivo negli ambiti concettuali, sociali e pratici. Devono essere soddisfatti i seguenti tre criteri:

- A. *Deficit delle funzioni intellettive, come ragionamento pratico, problem solving, pianificazione, pensiero astratto, capacità di giudizio, apprendimento scolastico e apprendimento dall'esperienza, confermati sia dalla valutazione clinica sia da test di intelligenza individualizzati, standardizzati.* I componenti critici sono comprensione verbale, memoria di lavoro, ragionamento percettivo, ragionamento quantitativo, pensiero astratto, e efficacia cognitiva.

¹ Il termine diagnostico *Disabilità Intellettiva* è equivalente al termine *Disturbi dello Sviluppo Intellettivo* per la diagnosi ICD-11. Una legge federale degli Stati Uniti (Public Law 111-256, Rosa's law) sostituisce il termine Ritardo Mentale con il termine Disabilità Intellettiva, che pertanto è il termine di uso comune da parte di medici, educatori e altri professionisti e da parte degli utenti non esperti e dei gruppi di difesa dei diritti dei malati.

- B. Deficit del funzionamento adattivo, che porta al mancato raggiungimento degli standard di sviluppo sociale e socioculturali di autonomia e responsabilità sociale. Senza un supporto costante, i deficit adattivi limitano il funzionamento in una o più attività della vita quotidiana, come la comunicazione, la partecipazione sociale e la vita autonoma, nei vari ambienti di vita (casa, scuola, ambiente lavorativo, comunità).*
- C. Esordio dei deficit intellettivi ed adattivi nel periodo dello sviluppo, ovvero nell'infanzia o adolescenza.*

I vari livelli di gravità sono definiti sulla base del funzionamento adattivo e non dei punteggi del quoziente intellettivo (QI), poiché è il funzionamento adattivo che determina il livello di assistenza richiesto. Inoltre i valori del QI risultano meno validi all'estremo inferiore della distribuzione del QI (vedi Tabella 1).

Tabella 1. Livelli di gravità della disabilità intellettiva (Disturbo dello sviluppo intellettivo).

Livello di gravità	Ambito concettuale	Ambito sociale	Ambito pratico
Lieve	<p>Nei bambini in età prescolare, possono non esserci anomalie concettuali evidenti. Nei bambini in età scolare e negli adulti sono presenti difficoltà di apprendimento di abilità scolastiche quali lettura, scrittura, capacità di calcolo, concetto del tempo o del denaro, che rendono necessaria qualche forma di supporto in una o più aree degli apprendimenti per poter soddisfare le aspettative correlate all'età. Negli adulti sono compromessi il pensiero astratto, la funzione esecutiva (per es. pianificazione, elaborazione di strategie, definizione delle priorità, flessibilità cognitiva), e la memoria a breve termine., così come l'uso funzionale delle abilità scolastiche (per es. lettura, gestione del denaro). E' presente un approccio ai problemi e soluzioni in qualche modo concreto rispetto ai coetanei.</p>	<p>Rispetto ai coetanei con sviluppo regolare, l'individuo è immaturo nelle interazioni sociali. Per esempio vi possono essere difficoltà nel percepire accuratamente gli stimoli sociali provenienti dai coetanei. La comunicazione, la conversazione e il linguaggio sono più concreti o più immaturi rispetto a quanto atteso in base all'età. Vi possono essere difficoltà nel controllare emozioni e comportamento in modi adeguati all'età; tali difficoltà vengono notate dai coetanei nelle situazioni sociali. E' presente una limitata comprensione del rischio nelle situazioni sociali; la capacità di giudizio sociale è immatura rispetto all'età, e la persona è a rischio di essere manipolata dagli altri (credulità).</p>	<p>L'individuo può funzionare in maniera adeguata all'età per quanto concerne la cura personale. Gli individui possono avere maggiormente bisogno di supporto nelle attività complesse della vita quotidiana rispetto ai coetanei. Nell'età adulta, il supporto riguarda generalmente il fare acquisti di alimenti, l'utilizzo dei trasporti, la gestione della casa o dei bambini, la preparazione dei pasti, la gestione delle finanze. Le capacità di svago sono simili a quelle dei coetanei, sebbene la capacità di giudizio rispetto al proprio stato di benessere e all'organizzazione del tempo libero richieda sostegno. Nell'età adulta, un impegno competitivo è spesso osservato in quei lavori che non enfatizzano abilità concettuali. Gli individui hanno generalmente bisogno di un supporto nel prendere decisioni che concernono la salute e l'ambito legale, e nell'apprendere adeguatamente lo svolgimento di una professione adeguata. Tipicamente il supporto è necessario per riuscire a formare una famiglia.</p>

Livello di gravità	Ambito concettuale	Ambito sociale	Ambito pratico
Moderato	<p>Per tutto il periodo dello sviluppo, le abilità concettuali dell'individuo restano marcatamente inferiori a quelle dei coetanei. Nei bambini in età prescolare, il linguaggio e le abilità prescolastiche si sviluppano lentamente. Nei bambini in età scolare, i progressi nella lettura, nella scrittura, nel calcolo e nella comprensione dei concetti di tempo e di denaro si verificano lentamente nel corso degli anni scolastici e sono notevolmente limitati rispetto a quelli dei coetanei. Negli adulti lo sviluppo delle attività scolastiche è tipicamente fermo ad un livello elementare, ed è necessario un supporto per l'uso completo delle abilità scolastiche nel mondo del lavoro e nella vita quotidiana. Per portare a termine le attività concettuali nella vita di ogni giorno è richiesta un'assistenza continua su base quotidiana, e altri al posto dell'individuo possono occuparsi completamente di queste responsabilità.</p>	<p>L'individuo mostra marcate differenze rispetto ai coetanei nel comportamento sociale e comunicativo durante lo sviluppo. Il linguaggio parlato è tipicamente uno strumento primario per la comunicazione sociale, ma risulta essere meno complesso rispetto a quello dei coetanei. La capacità di relazione è evidente nei legami stretti coi membri della famiglia e con gli amici, e l'individuo può sviluppare amicizie solide nel corso della vita e a volte relazioni amorose in età adulta. Tuttavia gli individui possono non percepire o non interpretare in modo corretto gli stimoli sociali. La capacità di giudizio sociale e di prendere decisioni è limitata, e il personale di supporto deve assistere la persona nelle decisioni della vita. Le relazioni di amicizia con coetanei di sviluppo regolare sono spesso influenzate dalle limitazioni sociali e comunicative. E' necessario un sostegno sociale e comunicativo significativo per avere successo nel campo lavorativo.</p>	<p>L'individuo può prendersi cura dei propri bisogni personali, compresi il mangiare, il vestirsi, l'evacuazione e l'igiene, allo stesso livello di un adulto, sebbene siano richiesti un ampio periodo di insegnamento e molto tempo affinché l'individuo diventi indipendente nella gestione di tali bisogni e può esserci bisogno di sollecitazioni. Allo stesso modo nell'età adulta può essere raggiunta la partecipazione a tutte le attività domestiche, sebbene sia necessario un esteso periodo di insegnamento e tipicamente abbiano luogo forme di sostegno continuo per garantire delle prestazioni adeguate all'età adulta. L'indipendenza lavorativa può essere raggiunta in lavori che richiedono limitate abilità concettuali e comunicative, ma è necessario un notevole sostegno da parte di colleghi, supervisori e altri nella gestione delle aspettative sociali, delle difficoltà lavorative e delle responsabilità ausiliarie quali pianificazione, trasporto, salute e gestione del denaro. Possono essere sviluppate svariate capacità ricreative. Queste tipicamente richiedono sostegno supplementare e opportunità di apprendimento per un periodo prolungato. In una minoranza significativa di individui è presente un comportamento disadattivo che causa problemi sociali.</p>

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"
Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

Livello di gravità	Ambito concettuale	Ambito sociale	Ambito pratico
Grave	<p>Il raggiungimento di abilità concettuali è limitato. L'individuo in genere comprende poco il linguaggio scritto o i concetti che comportano numeri, quantità, tempo e denaro. Il personale di supporto fornisce un sostegno esteso nella risoluzione dei problemi durante tutta la vita.</p>	<p>Il linguaggio parlato è abbastanza limitato per quanto riguarda il vocabolario e la grammatica. L'eloquio può essere composto da singole parole o frasi e può essere facilitato con l'aiuto di strumenti alternativi. L'eloquio e la comunicazione sono incentrati sul "qui e ora" degli eventi quotidiani. Il linguaggio è usato per la comunicazione sociale più che per dare spiegazioni. Gli individui comprendono i discorsi semplici e la comunicazione gestuale. Le relazioni con i membri della famiglia e con altri familiari sono fonte di piacere e di aiuto.</p>	<p>L'individuo richiede un sostegno in tutte le attività della vita quotidiana, compresi i pasti, il vestirsi, il lavarsi e l'evacuazione. L'individuo ha bisogno di supervisione in ogni momento. L'individuo non può prendere decisioni responsabili riguardanti il proprio benessere o il benessere altrui. Nell'età adulta, la partecipazione a compiti domestici, attività ricreative e lavoro richiede assistenza e supporto continuativi. Un comportamento disadattivo, compreso l'autolesionismo, è presente in una minoranza significativa di adulti.</p>

Livello di gravità	Ambito concettuale	Ambito sociale	Ambito pratico
Estremo	<p>Le abilità concettuali in genere si riferiscono al mondo fisico piuttosto che ai processi simbolici. L'individuo può usare gli oggetti in modo finalizzato per la cura personale, il lavoro e lo svago. Possono essere acquisite determinate abilità visuo-spaziali, come il confronto e la classificazione basati su caratteristiche fisiche. Tuttavia concomitanti compromissioni motorie o sensoriali possono impedire l'uso funzionale degli oggetti.</p>	<p>L'individuo ha una comprensione molto limitata della comunicazione simbolica nell'eloquio o nella gestualità. Può comprendere alcuni gesti o istruzioni semplici. L'individuo esprime i propri desideri ed emozioni principalmente attraverso la comunicazione non verbale, non simbolica. L'individuo gradisce i rapporti con i membri della famiglia, con il personale di supporto e con altri familiari ben conosciuti, e partecipa e risponde alle interazioni sociali attraverso segnali gestuali ed emozioni. Concomitanti compromissioni sensoriali e fisiche possono impedire molte attività sociali.</p>	<p>L'individuo è dipendente dagli altri in ogni aspetto della cura fisica, della salute e della sicurezza quotidiane, sebbene possa essere in grado di partecipare ad alcune di queste attività. Gli individui senza gravi compromissioni fisiche possono collaborare ad alcune attività domestiche quotidiane, come portare i piatti a tavola. Le azioni semplici con alcuni oggetti possono rappresentare la base per la partecipazione ad alcune attività professionali in presenza di alti livelli di sostegno continuativo. Le attività ricreative possono comportare, per esempio, ascoltare musica, guardare film, uscire per una passeggiata o partecipare ad attività in acqua, tutto con il supporto di altre persone. Compromissioni fisiche e sensoriali concomitanti rappresentano ostacoli frequenti alla partecipazione (al di là della semplice osservazione) ad attività domestiche, ricreative e professionali. E' presente comportamento disadattivo in una minoranza significativa di individui.</p>

2.1.1. Caratteristiche diagnostiche:

Le caratteristiche essenziali della disabilità intellettiva sono i deficit delle capacità mentali generali (criterio A) e un funzionamento adattivo quotidiano compromesso rispetto a quello di individui della stessa età, sesso e livello socioculturale (criterio B). L'esordio avviene durante il periodo di sviluppo (criterio B). La diagnosi di disabilità intellettiva è basata sia sulla valutazione clinica sia su test standardizzati per le funzioni intellettive e adattive.

Il criterio A si riferisce a funzioni intellettive che comportano ragionamento, problem solving, pianificazione, pensiero astratto, capacità di giudizio, apprendimento dall'istruzione e dall'esperienza, comprensione pratica. Componenti di cruciale importanza comprendono comprensione verbale, memoria di lavoro, ragionamento percettivo, ragionamento quantitativo, pensiero astratto ed efficacia cognitiva.

Il funzionamento intellettivo è tipicamente definito dal Quoziente di Intelligenza (QI), misurato con test di intelligenza somministrati individualmente, validi dal punto di vista psicometrico, completi, culturalmente appropriati (scale Wechsler, Stanford Binet, per citarne solo alcune).

Tali prove sono molto eterogenee per rispondere alle molteplici sfaccettature dell'intelligenza (prove verbali, di ragionamento, di risoluzione di problemi pratici) e, nel loro complesso, cercano quindi di fornire un valore rappresentativo delle capacità intellettive generali. Il principio generale che sottende l'utilizzazione di tali test è quello di sottoporre il soggetto in esame ad una serie di prove: il numero di prove superate permette di valutare, mediante il ricorso a tavole opportunamente elaborate, il suo Quoziente Intellettivo (QI). L'utilizzazione di tali test su ampi campioni rappresentativi della popolazione generale ha permesso di rilevare che i valori del QI seguono una distribuzione di tipo normale, con un valore medio e variazioni di segno negativo o positivo (Fig.1).

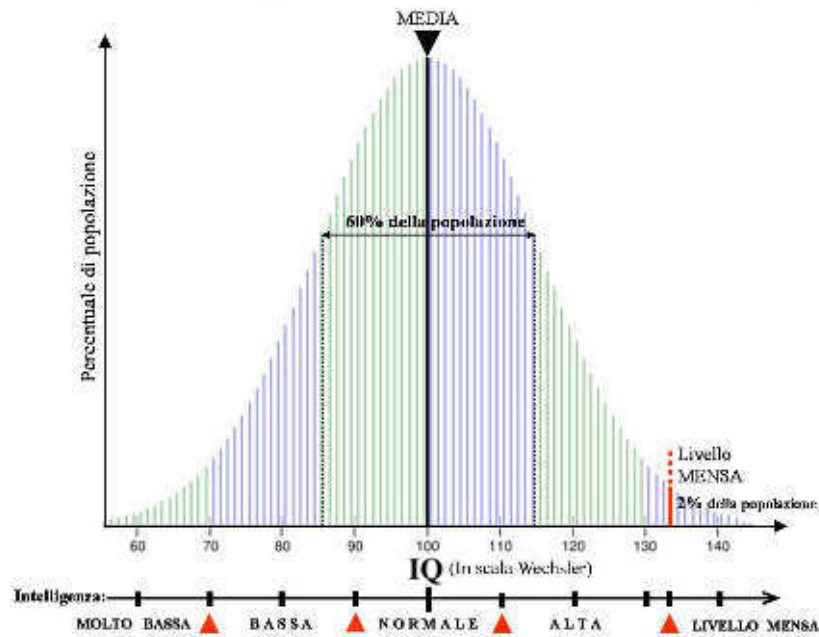


Fig.1: Distribuzione del Quoziente Intellettivo.

Un funzionamento intellettivo al di sotto della media è definito da un QI pari o sotto 70.

A partire da questo cut-off, la DI viene classificata in relazione al grado di gravità:

- Lieve (QI da 70 a 50-55)
- Moderato (QI da 50-55 a 40-35)
- Grave (QI da 40-35 a 20-25)
- Profondo (QI sotto 20-25)

Per interpretare i risultati dei test e valutare le prestazioni intellettive sono richiesti esperienza e giudizio clinico. Inoltre il punteggio dei test può essere influenzato oltre che dall'esperienza pratica dell'esaminatore, anche dal cosiddetto "effetto Flynn", legato all'attribuzione di punteggi eccessivamente alti a causa di dati normativi non aggiornati. Punteggi non validi possono derivare dall'uso di brevi test di screening dell'intelligenza o da test di gruppo; punteggi individuali discrepanti nei subtest possono rendere non valido il valore del QI complessivo.

Gli strumenti devono essere ovviamente adattati al background socioculturale dell'individuo e alla sua lingua madre. Disturbi concomitanti che influenzano comunicazione, linguaggio e/o funzioni motorie e sensoriali possono alterare i punteggi dei test. I profili cognitivi individuali basati su test neuropsicologici sono più utili nel comprendere le abilità intellettive dell'individuo rispetto al singolo punteggio QI. Questi test possono identificare aree di forza e di relativa debolezza, una valutazione importante al fine di pianificare strategie di intervento in ambito sociale, scolastico e lavorativo.

Tuttavia, i punteggi del test QI sono approssimazioni del funzionamento concettuale, ma possono essere insufficienti nel valutare la capacità di ragionamento nelle situazioni di vita reale e la padronanza delle abilità pratiche. Ad esempio, una persona con QI superiore a 70, può avere problemi talmente gravi del comportamento adattivo nel giudizio sociale, nella comprensione sociale ed in altri ambiti di funzionamento adattivo, che il funzionamento effettivo della persona risulta paragonabile a quello di individui con Qi più bassi. Pertanto è necessario il giudizio clinico per poter interpretare i risultati dei test.

I deficit del funzionamento adattivo (criterio B) si riferiscono al modo in cui una persona soddisfa gli standard di autonomia personale e di responsabilità sociale della comunità, in confronto con altri della stessa età e della stessa estrazione socio-culturale. Il funzionamento adattivo comporta un ragionamento adattivo in tre ambiti:

- *Concettuale*: coinvolge competenze nella memoria, linguaggio, lettura, scrittura, ragionamento matematico, acquisizione di conoscenze pratiche, problem solving, e capacità di giudizio in situazioni nuove.
- *Sociale*: implica la consapevolezza dei pensieri, sentimenti ed esperienze altrui; empatia; capacità di comunicazione interpersonale; capacità dei rapporti di amicizia, giudizio sociale.
- *Pratico*: il dominio pratico prevede l'apprendimento in diversi ambienti di vita, tra cui la cura personale, le responsabilità a lavoro, la gestione del denaro, lo svago, l'autocontrollo del comportamento, l'organizzazione dei compiti scolastici e in ambiente di lavoro.

Il funzionamento adattivo è inoltre influenzato da vari fattori: capacità intellettuale, istruzione, motivazione, socializzazione, caratteristiche di personalità, opportunità professionali, esperienza culturale e coesistenti condizioni mediche generali o disturbi mentali. Il Criterio B è soddisfatto quando almeno un dominio di funzionamento adattivo- concettuale, sociale, o pratico è sufficientemente compromesso ed è necessario un sostegno continuo in modo che la persona agisca in modo adeguato in una o più situazioni di vita: a scuola, al lavoro, a casa, o nella comunità. In particolare per la diagnosi di DI sono richieste limitazioni nel funzionamento adattivo in almeno due delle seguenti aree prestazionali: comunicazione, cura della persona, vita in famiglia, capacità sociali/interpersonali, uso delle risorse della comunità, autodeterminazione, capacità del funzionamento scolastico, lavoro, tempo libero, salute e sicurezza.

Il funzionamento adattivo è valutato sia mediante la valutazione clinica sia mediante misurazioni personalizzate, culturalmente appropriate e solide rispetto alla psicomетria. Le misurazioni standardizzate sono utilizzate mediante informatori attendibili (per es. parenti o altri membri della famiglia, insegnanti, care givers...) e l'individuo stesso nei limiti del possibile. Ulteriori fonti di

informazione comprendono le valutazioni in ambito scolastico, dello sviluppo, medico e della salute mentale. I punteggi ottenuti dalle misurazioni standardizzate e i colloqui devono essere interpretati attraverso il giudizio clinico. Quando, a causa di una varietà di fattori (per es., compromissione sensoriale, grave disturbo del comportamento) i test standardizzati sono difficili o impossibili da realizzare, l'individuo può ricevere la diagnosi di disabilità intellettiva senza specificazione. Il funzionamento adattivo, inoltre, può essere difficile da valutare negli ambienti controllati (come prigione o centri di detenzione); se possibile, bisognerebbe ottenere informazioni che possano riflettere il funzionamento adattivo al di fuori di tali ambienti.

Per soddisfare i criteri diagnostici della disabilità intellettiva, i deficit del funzionamento adattivo devono essere direttamente correlati ai deficit intellettivi descritti nel criterio A. Tuttavia, pur essendo il comportamento adattivo e il funzionamento adattivo strettamente condizionati dalle abilità intellettive, valutate in termini di QI, è necessario tener conto che queste non vanno di pari passo e spesso gravi compromissioni intellettive non impediscono di avere ugualmente un funzionamento sociale e un inserimento comunitario accettabile.

2.1.2. Epidemiologia

I dati di prevalenza nella popolazione generale non sono univoci, in parte per differenze reali fra le popolazioni, in parte per discrepanze metodologiche e interpretative e in parte per la molteplicità e diversità delle fonti consultate dagli autori dei vari studi.

L'analisi della letteratura dimostra che la DI è studiata prevalentemente nei paesi industrializzati rispetto a quelli in via di sviluppo e che esiste un'ampia variabilità dei tassi di prevalenza che oscillano fra 2 e 85 per mille (Roeleveld N et Al, 1997).

La prevalenza del DI, così come stabilisce l'*American Psychiatry Association* è stimata su valori che si situano dall'1 al 3 %, ma altre casistiche trovano una prevalenza fra 1 e il 10% con maggior incidenza nel sesso maschile (*sex ratio* maschi:femmine 1,5 (Riva et Al, 2007).

La prevalenza è più omogenea, nei vari studi, quando la si valuta solo sui pazienti affetti da DI di grado grave; in questi casi risulta essere di 6 individui su 1000.

La Disabilità Intellettiva è quindi una patologia molto frequente ed è una delle cause più frequenti di consultazione nelle strutture di Neuropsichiatria Infantile, molto più frequente delle Paralisi Cerebrali Infantili, dell'Epilessia e del DSA le cui prevalenze nella popolazione sono rispettivamente del 1-2,4 per mille, del 5 per mille e del 2-6 per mille (Yeargin-Allsopp M, Boyle C, 2002).

Per quanto attiene al rapporto maschi:femmine questo risulta essere di 1,5:1. La preponderanza dei maschi sulle femmine si verifica, per la maggior parte, nella DI di grado lieve: in varie ricerche si trova una eccedenza di maschi fino all'80%. Questo dato viene spesso correlato all'elevata frequenza di sindromi e/o di coinvolgimento di geni legati al cromosoma X.

Non bisogna infine, in queste brevissime note epidemiologiche, trascurare il fatto che tutti i dati conosciuti si riferiscono principalmente ai paesi industrializzati mentre per i paesi in via di sviluppo si può fare riferimento a pochi studi pubblicati, di cui i più citati in letteratura sono quelli riferiti al Bangladesh (Islam et Al, 1993; Durkin et Al 2000), che denotano un'ampia variabilità nei risultati forse dovuta all'inesistenza o incompletezza di registri, alla mobilità delle popolazioni, alla difficoltà di accesso alle popolazioni nei paesi con estese aree rurali.

Dall'analisi della letteratura condotta da Darkin nel 2002 si evince, comunque, che anche nei paesi in via di sviluppo la DI di grado lieve prevale su quella di grado grave ed è associata a fattori socioeconomici piuttosto che a fattori biologici (Serra e Mastropaolo, 2003).

2.1.3. Eziopatogenesi

La DI è una patologia eterogenea, esito dell'azione singola o multipla di numerosi fattori biologici, genetici, epigenetici, ambientali e sociali che possono agire nei diversi stadi dello sviluppo dell'individuo, dalla fecondazione fino alla maturazione completa e interferiscono con la crescita e la maturazione cerebrale.

E' importante conoscere l'eziologia perché permette di rispondere in modo corretto alle domande poste più frequentemente dal genitore sulla causa della malattia, sul futuro del figlio in relazione alle capacità intellettive e adattive e anche sul rischio di ricorrenza della stessa malattia in un altro figlio. Proprio per la notevole eterogeneità dei fattori eziopatogenetici non sempre è facile accertare la diagnosi eziopatogenetica che ancora oggi, nonostante l'ampia disponibilità di indagini laboratoristiche e strumentali, rimane una delle sfide più esaltanti per il neuropsichiatra infantile.

La diagnosi di disabilità intellettiva esemplifica un concetto esteso che abbraccia un'ampia varietà di fenotipi clinici e di gravità. Essendo un disordine collegato alla formazione e alla funzione cerebrale la DI riconosce determinanti genetici, insulti ambientali o la combinazione di entrambi.

Sull'assunto, quindi, che qualsiasi condizione che danneggi lo sviluppo del cervello possa determinare il RM, le classificazioni eziologiche esistenti sono basate sull'epoca in cui avviene l'insulto, sul tipo di insulto o su una combinazione di entrambi gli approcci.

Nel seguente grafico sono riportate le cause di DI (Stevenson et al, 2003. modificata)

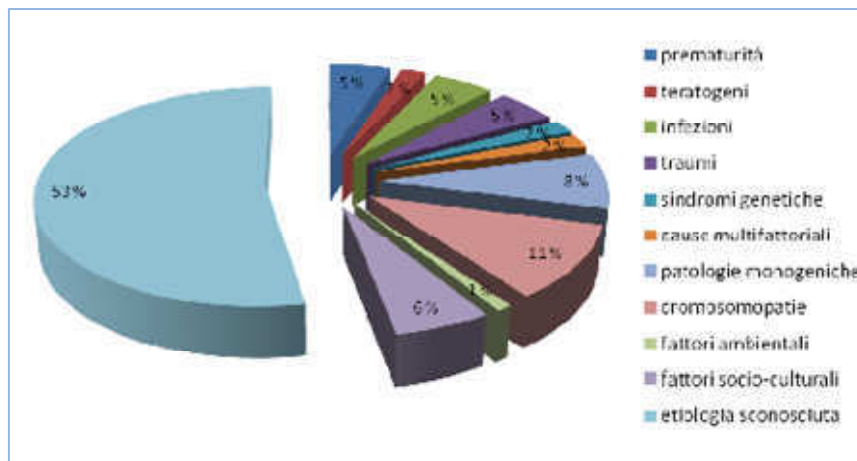


Figura 2: Cause di Disabilità Intellettiva

In genere è accettato che i fattori eziologici causa della DI grave differiscono rispetto a quelli che determinano le forme di grado lieve, essendo queste ultime per la maggior parte legate a cause ambientali e socio-culturali ed i primi invece di natura per lo più organica.

La DI lieve è di solito multifattoriale determinata dall'interazione di fattori genetici e non genetici al contrario di quello grave monofattoriale, determinato spesso da eventi catastrofici quali asfissia perinatale, infezioni prenatali o, più spesso, specifiche anomalie genetiche comprendenti anomalie cromosomiche o difetti di singoli geni.

La difficoltà nell'individuazione dell'eziopatogenesi è maggiore per la DI di grado lieve soprattutto per la minor necessità di interventi diagnostico assistenziali e quindi per la più tardiva individuazione della patologia; si ritiene, al contrario, che le forme gravi di DI siano maggiormente studiate proprio per la loro gravità, che essendo spesso associata ad altre patologie (epilessia, malformazioni, dismorfismi o definiti quadri sindromici) richiede precoci ricoveri per gli interventi terapeutici e assistenziali e quindi più facilmente i pazienti possono accedere ad un iter diagnostico esaustivo (Mastropaolo et al, 2004).

Oltre la categorizzazione in base alla gravità, la DI può anche essere classificata sulla base del fenotipo clinico in *Disabilità Intellettiva su base sindromica*, quando nel paziente sono presenti anche particolari segni somatici, comportamentali, malformativi e neurologici, o *Disabilità Intellettiva non sindromico o aspecifico*, quando la DI costituisce l'unico evento patologico.

Le sindromi e le malformazioni congenite multiple con DI sono oggetto di studio della dismorfologia, disciplina della genetica clinica che studia e cerca di interpretare i pattern della crescita umana, i difetti strutturali o solo i segni dismorfici che determinano fenotipi somatici differenti da quelli dei familiari non affetti.

Nelle forme non sindromiche è spesso molto difficile escludere la presenza di piccole anomalie neurologiche o lievi disordini psichiatrici, a causa della difficoltà nel diagnosticarli legata allo stesso deficit cognitivo. Inoltre i sintomi di alcune sindromi possono essere così lievi da essere essi stessi evidenziati con difficoltà, a meno che non siano ricercati specificamente. Quindi la distinzione fra i due tipi di disabilità intellettiva sindromica e non-sindromica è spesso confusa (Kaufman et al, 2010).

Esiste poi il grande capitolo del *Ritardo Mentale X-Linked*.

Il grande numero di forme X-linked (circa il 10% dei casi di sesso maschile) spiega in parte la prevalenza più alta del 30% di maschi comparati alle femmine (Ropers, 2010; Gecz et AL, 2009). Include più di 200 sindromi e circa 90 geni identificati (des Portes V, 2013).

Tradizionalmente anche la Disabilità intellettiva X-linked è distinta in sindromica e non sindromica ed anche in questo caso la distinzione, basata sulla presenza o meno di segni e sintomi associati, diventa sempre meno chiara. La sindrome dell'X fragile è la causa monogenica più frequente.

Ancora ora, comunque, nonostante il notevole incremento di individuazione di anomalie genetiche responsabili, la causa della DI rimane sconosciuta in circa il 40-60% dei casi (Rauch et AL 2006).

Con il progredire delle conoscenze mediche ed in particolare della citogenetica e della genetica molecolare negli ultimi anni è stato individuato un numero assai elevato di anomalie genetiche responsabili di DI prima non specificate.

Questo dato ci suggerisce che l'eziologia della DI possa essere quindi suddivisa in genetica e non genetica includendo nell'ultima i fattori che agiscono in epoca pre-peri-postnatale di tipo infettivo, tossico, ischemico-anossico, carenziale, traumatico, ma anche i fattori connessi alla povertà, alla deprivazione culturale e alle disagiate condizioni socioeconomiche.

L'eziopatogenesi non genetica fa parte della trattatistica più classica e nota.

In riferimento allo specifico studio oggetto della tesi si approfondirà l'eziopatogenesi genetica.

Si approfondirà questo argomento nel paragrafo dedicato alla genetica dei disordini del neurosviluppo qui, brevemente riportiamo la suddivisione percentuale delle cause genetiche.

Per quanto riguarda le forme geneticamente determinate si pensa che corrispondano a circa il 25-50% dei casi. In particolare le anomalie cromosomiche visibili microscopicamente (aneuploidie, grosse delezioni, inversioni e riarrangiamenti) spiegano il 15% circa dei casi ; le piccole CNVs spiegano un altro 15%; mutazioni puntiformi e piccole inserzioni o delezioni si riscontrano in oltre il 90% delle forme X-linked e spiegano un altro 10% (Topper et al, 2011).

2.2 I Disordini dello Spettro Autistico

L'Autismo non è un fenomeno recente. Già a partire dal XVIII° secolo nei resoconti medici si trovano degli indizi su probabili casi di Autismo. Fu descritto un caso di Autismo da parte del farmacista del Bethlem Hospital, e si pensa sia proprio la prima dimostrazione di questo disturbo. Si trattava di un bambino di cinque anni, ricoverato nel 1799; si osservò che questo bambino non si interessava mai agli altri bambini, ma giocava in modo assorto ed isolato.

Il termine Autismo deriva dal greco Autòs che significa “ripiegato”, “richiuso su se stesso”, venne inizialmente utilizzato da Bleuler nel 1911 per descrivere una condizione di chiusura dal resto del mondo ed un ritiro dalla vita sociale da parte dell'individuo affetto da schizofrenia.

Solo nel 1943 Kanner dette la prima descrizione clinica dell'Autismo Infantile Precoce, definendolo come una situazione legata ad un disturbo affettivo primario, in un contesto relazionale specifico, con genitori intellettuali, particolarmente rigidi con una madre disaffettiva.

Negli anni '50 e '60 gli psicoanalisti erano convinti che l'Autismo fosse una reazione psicologica dei bambini a delle cure genitoriali inadeguate; era in voga la teoria del “Refrigerator Mothers” (Madri Frigorifero).

Per decenni, generazioni di madri di bambini autistici sono state accusate di essere la causa del disturbo dei loro bambini. Solo nel 1960 ci si accorse che qualche individuo affetto da Autismo era anche epilettico: fu il primo dato che fece vacillare la teoria nel tempo.

Lorna Wing, nel 1988, definì la triade sintomatologica (deficit di socializzazione, di comunicazione, di interessi e immaginazione) che riassumeva le caratteristiche principali del Disturbo Autistico, che ha infatti preso anche il nome di “*Triade di Wing*” .

Nel 1980 il DSM III lo classificò come disordine generalizzato dello sviluppo.

Nel 1992-1994 il DSM IV e ICD-10 diedero la definizione di Disturbo Generalizzato dello Sviluppo.

2.2.1 Caratteristiche diagnostiche

Attualmente si fa riferimento al DSM-V (manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali dell'*American Psychiatry Association*), che classifica il Disturbo dello spettro autistico in base alla gravità.

Criteri diagnostici:

- A. Deficit persistenti della comunicazione sociale e dell'interazione sociale in molteplici contesti, come manifestato dai seguenti fattori, presenti attualmente o nel passato.

1. Deficit della reciprocità socioemotiva, che vanno, per esempio, da un approccio sociale anomalo e dal fallimento della normale reciprocità della conversazione; a una ridotta condivisione di interessi, emozioni o sentimenti; all'incapacità di dare inizio o di rispondere a interazioni sociali.
2. Deficit dei comportamenti comunicativi non verbali utilizzati per l'interazione sociale, che vanno, per esempio, dalla comunicazione verbale e non verbale scarsamente integrata; ad anomalie del contatto visivo e del linguaggio del corpo o deficit della comprensione e dell'uso dei gesti; ad una totale mancanza di espressività facciale e di comunicazione non verbale.
3. Deficit dello sviluppo, della gestione e della comprensione delle relazioni, che vanno, per esempio, dalle difficoltà di adattare il comportamento per adattarsi ai diversi contesti sociali; alle difficoltà di condividere il gioco di immaginazione o di fare amicizia; all'assenza di interessi verso i coetanei.

Specificare la gravità attuale:

il livello di gravità su base sulla compromissione sulla compromissione della comunicazione sociale e sui pattern di comportamento ristretti, ripetitivi (si veda tabella 2)

- B. Pattern di comportamento, interessi o attività ristretti, ripetitivi, come manifestato da almeno due dei seguenti fattori, presenti attualmente o nel passato:
1. Movimenti, uso degli oggetti o eloquio stereotipati o ripetitivi (per es. stereotipie motorie semplici, mettere in fila giocattoli o capovolgere oggetti, ecolalia, frasi idiosincratiche).
 2. Insistenza nella *sameness*, (immodificabilità), aderenza alla routine priva di flessibilità o rituali di comportamento verbale e non verbale (per es. estremo disagio rispetto a piccoli cambiamenti, difficoltà nelle fasi di transizione, schemi di pensiero rigidi, saluti rituali, necessità di percorrere la stessa strada o mangiare lo stesso cibo ogni giorno).
 3. Interessi molto limitati, fissi che sono anomali per intensità o profondità (per es. forte attaccamento o preoccupazione nei confronti di oggetti insoliti, interessi eccessivamente circoscritti o perseverativi).
 4. Iper- o ipo-reattività in risposta a stimoli sensoriali o interessi insoliti verso aspetti sensoriali dell'ambiente (per es. apparente indifferenza a dolore/temperatura, reazione di avversione nei confronti di suoni o consistenze tattili specifici, annusare o toccare oggetti in modo eccessivo, essere affascinati da luci o da movimenti).

Specificare la gravità attuale:

il livello di gravità su base sulla compromissione sulla compromissione della comunicazione sociale e sui pattern di comportamento ristretti, ripetitivi (si veda tabella 2)

- C. I sintomi devono essere presenti nel periodo precoce dello sviluppo (ma possono manifestarsi pienamente prima che le esigenze sociali eccedano le capacità limitate, o possano essere mascherati da strategie apprese in età successive).
- D. I sintomi causano compromissione clinicamente significativa del funzionamento in ambito sociale, lavorativo o in altre aree importanti.
- E. Queste alterazioni non sono meglio spiegate da disabilità intellettiva (disturbo dello sviluppo intellettivo) o da ritardo globale dello sviluppo. La disabilità intellettiva e il disturbo dello spettro autistico spesso sono presenti in concomitanza; per porre diagnosi di comorbidità di disturbo dello spettro autistico e di disabilità intellettiva, il livello di comunicazione sociale deve essere inferiore rispetto a quanto atteso per il livello di sviluppo generale.

Nota: gli individui con una diagnosi consolidata di DSM-IV di disturbo autistico, disturbo di Asperger, o disturbo pervasivo dello sviluppo senza specificazione, dovrebbero ricevere diagnosi di disturbo dello spettro dell'autismo. Gli individui che presentano marcati deficit della comunicazione sociale, ma i cui sintomi non soddisfano i criteri per il disturbo dello spettro dell'autismo, dovrebbero essere valutati per la diagnosi di disturbo della comunicazione sociale (pragmatica).

Specificare se:

con o senza compromissione intellettiva associata

con o senza compromissione del linguaggio associata

associato ad una condizione medica o genetica nota o a un fattore ambientale

associato ad un altro disturbo del neurosviluppo, mentale o comportamentale

con catatonia

Tabella 2: Livelli di gravità del Disturbo dello Spettro dell'Autismo

Livello di gravità	Comunicazione sociale	Comportamenti ristretti, ripetitivi
Livello 3 "E' necessario un supporto molto significativo"	Gravi deficit delle abilità di comunicazione sociale, verbale e non verbale, causano gravi compromissioni del funzionamento, avvio molto limitato delle interazioni sociali e reazioni minime alle aperture sociali da parte di altri. Per esempio, una persona con un eloquio caratterizzato da poche parole comprensibili, che raramente avvia interazioni sociali e, quando lo fa, mette in atto approcci insoliti solo per soddisfare esigenze e risponde solo ad approcci sociali molto diretti	Inflessibilità di comportamento, estrema difficoltà nell'affrontare il cambiamento, o altri comportamenti ristretti/ripetitivi interferiscono in modo marcato con tutte le aree del funzionamento. Grande disagio/difficoltà nel modificare l'oggetto dell'attenzione o l'azione
Livello 2 "E' necessario un supporto significativo"	Deficit marcati delle abilità di comunicazione sociale, verbale e non verbale; compromissioni sociali visibili anche in presenza di supporto; avvio limitato delle interazioni sociali; reazioni ridotte o anomale alle aperture sociali da parte di altri. Per esempio, una persona che parla usando frasi semplici, la cui interazione è limitata a interessi ristretti e particolari e che presenta una comunicazione non verbale decisamente strana.	Inflessibilità di comportamento, difficoltà nell'affrontare i cambiamenti o altri comportamenti ristretti/ripetitivi sono sufficientemente frequenti da essere evidenti ad un osservatore casuale e interferiscono con il funzionamento in diversi contesti. Disagio/difficoltà nel modificare l'oggetto dell'attenzione o l'azione.
Livello 1 "E' necessario un supporto"	In assenza di supporto, i deficit della comunicazione sociale causano notevoli compromissioni. Difficoltà ad avviare le interazioni sociali e chiari esempi di risposte atipiche o infruttuose alle aperture sociali da parte di altri. L'individuo può mostrare un interesse ridotto per le interazioni sociali. Per esempio, una persona che è in grado di formulare frasi complete e si impegna nella comunicazione, ma fallisce nella conversazione bidirezionale con gli altri, e i cui tentativi di fare amicizia sono strani e in genere senza successo.	L'inflessibilità di comportamento causa interferenze significative con il funzionamento in uno o più contesti. Difficoltà nel passare da una attività all'altra. I problemi nell'organizzazione e nella pianificazione ostacolano l'indipendenza.

Circa il 70% dei bambini affetti da autismo presenta anche Disabilità intellettiva e il 25% presenta epilessia (Tuchman e Rapin, 2002).

Gli aspetti evidenziabili precocemente più caratteristici sono l'assenza del contatto di sguardo, presenza di bizzarrie quali le stereotipie gestuali, emissioni di suoni, dondolamenti etc, assenza del sorriso comunicativo al 2° mese e assenza della reazione di angoscia all'estraneo all'8 mese. Con la crescita si rende evidente la tendenza all'isolamento, il rifiuto del contatto corporeo, gli interessi particolari per gli oggetti e il ritardo nell'acquisizione del linguaggio con compromissione qualitativa dello stesso, fino alla totale assenza. Il disturbo del linguaggio, principalmente il ritardo del suo sviluppo è spesso il segno clinico che spinge i genitori a chiedere la prima consultazione.

I bambini presentano inoltre disturbi della condotta alimentare, disturbi della reciprocità emotiva, anomalie sensoriali, interessi ristretti, comportamenti stereotipi e ripetitivi, disomogenee capacità cognitive e adattive potendo brillare settorialmente in alcuni campi e settori specifici. Il divario tra abilità funzionali intellettive e adattive è spesso ampio. Sono frequenti deficit motori, compresi andatura stravagante, goffaggine e altri segni motori anomali per esempio camminare in punta di piedi. Può manifestarsi autolesionismo (per esempio colpirsi il capo e mordersi i polsi) e i comportamenti dirompenti/sfidanti sono più comuni nei bambini e negli adolescenti con DSA che in quelli con altri disturbi, compresa la disabilità intellettiva. Adolescenti e adulti con DSA presentano una predisposizione verso ansia e depressione. Alcuni individui sviluppano comportamento motorio di tipo catatonico (lentezza e freezing durante l'esecuzione delle azioni), ma in genere non di intensità pari a quello di un episodio di catatonia. Tuttavia è possibile che individui con disturbo dello spettro dell'autismo sperimentino un deterioramento marcato dei sintomi motori e presentino un episodio catatonico conclamato con sintomi quali mutismo, tendenza da assumere posture fisse, smorfie e flessibilità cerea. Il periodo più a rischio per la comorbidità con la catatonia è quello dell'adolescenza.

Le diagnosi sono più valide e affidabili quando si basano su più fonti di informazioni tra cui le osservazioni del clinico, ciò che viene riferito dal care-giver e, quando possibile, le autovalutazioni.

Le manifestazioni del disturbo variano molto in base al livello di gravità della condizione autistica, al livello di sviluppo e all'età cronologica; da qui il termine di *spettro*. Il disturbo dello spettro dell'autismo comprende disturbi che precedentemente erano classificati come autismo infantile precoce, autismo infantile, autismo di Kanner, autismo ad alto funzionamento, autismo atipico, disturbo pervasivo dello sviluppo senza specificazione, disturbo disintegrativo dell'infanzia e disturbo di Asperger.

Come la Disabilità Intellettiva anche l'Autismo è una patologia gravemente invalidante che dura tutta la vita, che necessita di numerosi e importanti interventi assistenziali, sia sul versante sanitario che sociale, e che è causa di sofferenza non solo per chi ne è affetto ma anche per l'intero nucleo familiare.

2.2.2 Epidemiologia

L'autismo è stato descritto in tutte le popolazioni del mondo, di ogni razza o ambiente sociale e non sembra presentare prevalenze geografiche o etniche.

Considerato per lungo tempo una patologia rara sulla base dei primi studi epidemiologici che indicavano un'incidenza di Autismo di 2-5 casi su 10000 bambini, dagli anni 90 in poi è stato segnalato dagli studi epidemiologici condotti in moltissimi paesi un importante aumento dell'incidenza.

L'autismo non sembra presentare prevalenze geografiche e/o etniche, in tutti gli studi si conferma la prevalenza dei casi nel sesso maschile con rapporto maschi: femmine di 4:1 (Fombonne 2005).

Nel 2001 nel Regno Unito Chakbarti and Fombonne hanno riscontrato un'incidenza di 16,8 casi di autismo su 10000 e 63 casi di DGS su 10000 bambini di età inferiore ai 5 anni e nel 2009 Kogan et al segnalano un'incidenza di 22 casi di Autismo su 10000 e 59 casi di DGS su 10000 in bambini di età inferiore ai 6 anni.

Attualmente si stima che la prevalenza sia del 1% quando si considera l'intero spettro autistico (Gillberg and Wing: Fombonne 2003;Kogan 2009 TF).

I dati di sorveglianza dell'autismo e dei disordini dello sviluppo negli Stati Uniti relativi all'anno 2008, pubblicati nel 2012, indicano una prevalenza di 11.3 (4.8-21.2) per 1000 bambini di età 8 anni (1 su 88 bambini) con 1 caso per 54 maschi e 1 caso su 252 femmine. La comparazione con i dati del 2006 (9 affetti su 1000) indica un incremento del 23% e, rispetto al 2002 (prevalenza di 6.4 su 1000) del 78%. I dati confermano che la prevalenza continua a crescere; se questo rifletta una miglior diagnosi, una miglior consapevolezza e accesso ai servizi o sia un vero incremento della prevalenza non è ancora noto (CDC, 2012).

Per quanto attiene ai dati in Italia si può fare riferimento a quelli ricavabili dai sistemi informativi delle regioni Piemonte ed Emilia-Romagna che indicano una presa in carico ai servizi di Neuropsichiatria Infantile di pazienti autistici di 25 su 10000 e 20 su 10000 (linee guida ISS)

2.2.3. Classificazione e etiopatogenesi

Come il RM anche l'Autismo è classificato in base al fenotipo clinico associato (Miles, 2011):

- Autismo essenziale o idiopatico in assenza di altri sintomi e/o segni. Rappresenta la maggior parte degli Autismi e la sua eziologia è per la gran parte dei casi sconosciuta.

- Autismo secondario o Complesso se associato a DI, epilessia, malformazioni e/o dismorfismi.

- Sindrome doppia (Autismo sindromico) quando il paziente affetto da una sindrome definita presenta anche l'autismo.

Sindrome doppia è quella condizione clinica per la quale esiste un nesso causale fra le due condizioni (sindrome e autismo) ovvero quando:

- la sindrome è stata descritta in pazienti NON autistici

- la maggior parte dei pazienti con la sindrome NON presenta l'autismo

- la prevalenza stimata di autismo nella sindrome eccede la prevalenza di autismo della popolazione generale

L'autismo sindromico, nel senso allargato del termine, si verifica nel 10% circa dei casi e, a differenza dell'autismo idiopatico mostra un uguale rapporto maschi: femmine (Toriello, 2012; Lintas, 2009).

A proposito delle sindromi doppie è necessario precisare che esiste un interrogativo ancora aperto, interrogativo che rende ancora più difficile la comprensione di questa patologia di per sé così complessa: si tratta di vero autismo? Infatti, nonostante il DSA sia stato associato a svariate sindromi genetiche non è chiaro se la co-morbidità (DSA e sindrome) avvenga perché lo stesso set di geni sia causale di entrambe le situazioni o se la DI associata alla specifica sindrome possa incrementare il rischio di autismo.

La tabella seguente mostra la prevalenza stimata di autismo, il grado di DI associato, nelle sindromi genetiche che più di frequente si associano ad autismo.

Tabella 3: Associazione di alcune Sindromi Genetiche con i DSA (Moss J, Howlin P, 2009)

Sindrome Genetica	Grado di DI	Prevalenza di DSA associato
Sindrome dell'X Fragile	Da moderato a severo	21-50%
Sindrome di Rett	Da severo a profondo	25-40% (DSA classico), 97% (DSA lieve)
Sclerosi Tuberosa	Da normale a profondo	lieve)
Sindrome di Down	Da moderato a severo	5-39%
Fenilchetonuria	Da normale a severo	5%
CHARGE	Da normale a severo	15-50%
Sindrome di Angelman	Da severo a profondo	50-80%

L'autismo è stato anche associato a errori congeniti del metabolismo, da qui l'indicazione ad eseguire anche lo screening metabolico.

Tabella 3: Screening neurometabolico consigliato in presenza di DSA. (Zecavati N. et al., 2009)

Signs and symptoms	Possible diagnoses	Metabolic tests to consider
Developmental delay, hypotonia, seizures, visual and hearing impairments	Biotinidase deficiency	Measurement of plasma biotinidase activity
MR, microcephaly, growth retardation, hypotonia	Smith-Lemli-Opitz syndrome	Serum 7-dehydrocholesterol level
Regression, seizures, dyskinesia, psychomotor retardation	CNS folate deficiency	CSF 5-MTHF level
Developmental delay, seizures, MR	ADA Creatine deficiency SSADH	Serum assay of ADA activity Blood and urinary concentration of creatine and guanidinoacetic acid Modified urinary organic acid screening for 4-hydroxybutyric acid [11]
MR, hyperactivity, aggression, regression, sleep disturbance	Sanfilippo syndrome	Urinary mucopolysaccharide electrophoresis; lysosomal storage enzyme testing for MPS III types A–D

ADA—adenosine deaminase; CNS—central nervous system; CSF—cerebrospinal fluid; MR—mental retardation; SSADH—succinic semialdehyde dehydrogenase; MPS III—mucopolysaccharidosis III; 5-MTHF—5-methyltetrahydrofolate.

L'eziopatogenesi dell'autismo rimane ancora non definita nonostante la precisazione dei criteri diagnostici e la validazione delle scale di valutazione che hanno reso possibile il confronto e la condivisione delle ricerche fra i clinici e anche nonostante le ingenti risorse investite.

I risultati ottenuti non sono all'altezza delle aspettative e rimane ancora sconosciuta la gran parte dei meccanismi genetico-biologici.

Il complesso rapporto mente-cervello e, nel caso specifico la sua alterazione, rende difficile l'applicazione del modello sequenziale eziopatogenetico comunemente applicato nel campo medico, modello che a partire dall'eziologia passando per l'anatomia patologia e la patogenesi arriva alla spiegazione dei sintomi.

L'interazione fra eziologia e patogenesi è complessa: il comportamento osservato può essere il risultato di vie patogenetiche differenti che, a loro volta, sono condizionate dalle fasi di sviluppo e dalle sottostanti cause eziologiche. L'eterogeneità clinica quindi riflette la complessità del suo profilo genetico, (geni multipli, locus eterogenei, fattori epigenetici: *imprinting*, interazione gene-ambiente etc) e l'eterogeneità individuale (Abrahams BS, 2008).

L'ipotesi patogenetica più attuale si basa sui risultati degli studi condotti in ambito genetico, morfologico e metabolico.

Fra i disordini del neurosviluppo l'autismo è la patologia per la quale è stata dimostrata la più ampia base genetica come documentato dal rischio familiare di ricorrenza (nei fratelli il rischio è del 2-6%

per il disturbo autistico e del 15-25% per l'ampio spettro), dagli studi sui gemelli (concordanza fra gemelli omozigoti superiore al 73-95% contro quella degli eterozigoti del 9%), dalla co-occorrenza con disordini cromosomici e sindromi genetiche rare, dalla alta ereditarietà (> 90%, come si stima dagli studi sui gemelli) e dalla osservazione nei familiari di caratteristiche comportamentali quali la tendenza al mantenimento di abitudini, reticenza sociale e difficoltà comunicative, ovvero quello che viene definito il Fenotipo Autistico Allargato (Persico, 2013).

Più recentemente con gli studi genetici sono state individuate mutazioni in famiglie di geni quali le neurologine, neurorexine e ubiquitine, famiglie di geni coinvolti in meccanismi di adesione cellulare. Si è così ipotizzato che una delle possibili vie biologiche causali sia l'alterata connettività neuronale.

Gli studi morfologici e su modelli animali suggeriscono, dal canto loro, l'importanza delle modificazioni della struttura e della funzione delle sinapsi e dei dendriti.

Gli studi metabolici sottolineano l'importanza della vulnerabilità allo stress ossidativo con successivo danno cellulare.

L'eterogeneità clinica dei DSA si pensa che rifletta almeno in parte la complessità della genetica con i suoi molteplici meccanismi e la sua complessa interazione con l'ambiente.

Pertanto l'ipotesi attualmente più accreditata è quella che suggerisce in primo luogo l'esistenza di un background genetico predisponente e quindi l'intervento di una serie di fattori ambientali che, nei soggetti geneticamente suscettibili, intervengono nel determinare le alterazioni del sistema nervoso, che sembrano essere la base biologica dell'autismo.

Ci sono varie teorie e vari studi che tentano di dare una risposta ai vari quesiti riguardanti l'eziopatogenesi di questo disturbo così complesso:

1. MODELLI INTERPRETATIVI DELLA CLINICA

La prima area di ricerca è volta a definire le caratteristiche del funzionamento mentale di tipo autistico, da cui discendono i comportamenti che caratterizzano il quadro clinico.

Nel corso di questi ultimi anni le ipotesi interpretative che sembrano riscuotere i maggiori consensi, rientrano nei seguenti modelli:

- Teoria Socio-Affettiva:

La teoria socio-affettiva parte dal presupposto che l'essere umano nasce con una predisposizione innata ad interagire con l'altro (Hobson, 1993). Si tratta di un bisogno primario non inferito dalle esperienze, né condizionato o dettato da altri tipi di bisogni. E' un qualcosa che appartiene al corredo genetico del bambino, come patrimonio della specie, e che viene definito con diversi

termini, quali empatia non inferenziale o intersoggettività primaria (Trevarthen et al., 2001). Peraltro, il neonato anche se molto attento agli stimoli sensoriali sembra mostrare una particolare predilezione per quelli di natura sociale (Dawson et al., 1998). Secondo la teoria socio-affettiva, pertanto, esisterebbe nell'autismo un'innata incapacità, biologicamente determinata, di interagire emozionalmente con l'altro. Tale incapacità, secondo una reazione a cascata, porterebbe all'incapacità di imparare a riconoscere gli stati mentali degli altri, alla compromissione dei processi di simbolizzazione, al deficit del linguaggio, al deficit della cognizione sociale.

- Deficit della Teoria della Mente

Con il termine Teoria della Mente viene indicata la capacità di riflettere sulle emozioni, sui desideri e sulle credenze proprie ed altrui e di comprendere il comportamento degli altri in rapporto non solo a quello che ciascuno di noi sente, desidera o conosce, ma in rapporto a quello che ciascuno di noi pensa che l'altro sente, desidera o conosce (Baron-Cohen et al., 2000). Si tratta di un "modulo" cognitivo, che matura progressivamente nel tempo per realizzarsi intorno ai 4 anni. In particolare, nei primi anni di vita il bambino attraverso lo sguardo referenziale, l'attenzione condivisa e il gioco di finzione si approprierebbe della capacità di leggere progressivamente le emozioni, i desideri e le credenze, di sistematizzarli in un sistema di conoscenze e di giungere ad effettuare delle rappresentazioni mentali degli altri (metarappresentazioni). Secondo questo tipo di approccio, l'autismo sarebbe legato ad un'incapacità del bambino di accedere ad una Teoria della Mente, rimanendo in una situazione di cecità mentale (Baron-Cohen, 1995). Il bambino autistico, cioè, sarebbe incapace di comprendere e riflettere sugli stati mentali propri ed altrui e, conseguentemente, di comprendere e prevedere il comportamento degli altri.

- Debolezza della Coerenza Centrale

Il profilo cognitivo del bambino autistico permette di rilevare una serie di elementi caratterizzanti, rappresentati da un'incapacità di cogliere lo stimolo nel suo complesso, un'elaborazione segmentata dell'esperienza, una difficoltà di accedere dal particolare al generale, una polarizzazione esasperata su frammenti di esperienza. Tali elementi hanno indotto a formulare l'ipotesi di una Debolezza della Coerenza Centrale (Frith et al., 1994; Happé et al., 1996). La Coerenza Centrale va intesa come quella capacità di sintetizzare in un tutto coerente, o se si preferisce di sistematizzare in un sistema di conoscenza, le molteplici esperienze parcellari che investono i nostri sensi. Una "debolezza" in suddetta capacità porta il bambino autistico a rimanere ancorato a dati esperienziali parcellizzati, con incapacità di cogliere il significato dello stimolo nel suo complesso. Un tale modello suggerisce che il funzionamento mentale di tipo

autistico si caratterizza come uno stile cognitivo che investe non solo l'elaborazione degli stimoli sociali, ma più in generale di tutti i dati esperenziali.

- Deficit delle Funzioni Esecutive:

Con il termine di Funzioni Esecutive vengono indicate una serie di abilità che risultano determinanti nell'organizzazione e nella pianificazione dei comportamenti di risoluzione dei problemi (Pennington et al., 1996). Tali abilità sono rappresentate da:

- la capacità di attivare e di mantenere attiva, a livello mentale, un'area di lavoro, una sorta di scrivania mentale, sulla quale disporre tutti gli elementi pertinenti al compito in esame;
- la capacità di formulare mentalmente un piano di azione;
- la capacità di non rimanere rigidamente ancorati, nella formulazione della risposta, ai dati percettivi che provengono dal contesto;
- la capacità di inibire risposte "impulsive";
- la capacità di essere attenti alle informazioni di ritorno, per correggere, in base ad esse, il piano inizialmente formulato;
- la capacità, infine, di spostare in modo flessibile l'attenzione sui vari aspetti del contesto.

Molti dei comportamenti autistici sarebbero l'espressione di un deficit di tali abilità: per esempio, l'impulsività, per l'incapacità di inibire le risposte inappropriate; l'iperselettività, per l'incapacità di cogliere il tutto senza rimanere ancorato al particolare; la perseverazione, per l'incapacità di ridirezionare in maniera flessibile l'attenzione. Anche tale modello, così come quello della Coerenza Centrale, individua nell'Autismo un deficit cognitivo di natura "generale" e non limitato all'elaborazione degli stimoli sociali (come ipotizzato, viceversa, dal Deficit della Teoria della Mente).

2. BASI NEUROBIOLOGICHE:

La frequenza degli episodi epilettici e il ritardo mentale spesso associati all'autismo suggeriscono la possibile presenza di alterazioni neuroanatomiche nel paziente

Gli studi morfologici del sistema nervoso centrale tramite tecniche di brain imaging non invasive, ottenute tramite TAC e RMN, hanno rilevato spesso anomalie in diverse strutture cerebrali, quali il cervelletto (Courchense, 1998; Kemper et al., 1998), il lobo frontale (Castelli et al., 2000; Schultz et al., 2003), il sistema limbico, con particolare riferimento all'amigdala e all'ippocampo (Baron-Cohen et al., 2000; Schultz et al., 2000; Courchense, 2001). Gli studi postmortem effettuati sul cervello di pazienti autistici hanno evidenziato infatti la presenza di anomalie a livello del sistema limbico e a livello dei circuiti cerebellari. Le cellule che costituiscono il sistema limbico (suddiviso

in ippocampo, lobo limbico, corpi mammillari, amigdala e nuclei medio-dorsale e anteriore del talamo) risultano di dimensioni più ridotte e il loro numero per unità di volume è superiore alla norma. Tali dati sono interessanti poichè il sistema limbico è la parte del cervello coinvolta direttamente nella modulazione delle emozioni e della memoria: studi recenti dimostrano che lesioni indotte a livello dell'amigdala e dell'ippocampo inducono nelle scimmie alcune alterazioni comportamentali simili a quelle osservabili nei soggetti autistici. (Courchesne E., Baron-Cohens et al.).

Per quanto riguarda il cervelletto è stata evidenziata una diminuzione nel numero delle cellule di Purkinje e dei granuli, specialmente negli emisferi inferiore e posteriore di questa formazione nervosa. In ultima analisi, l'autismo può essere anche associato ad alcune alterazioni del tronco cerebrale, che può infatti risultare più corto del normale, così che strutture cerebrali come il nucleo facciale e il corpo trapezoidale risultino più vicine a strutture del midollo allungato come il nucleo olivare inferiore.

Attualmente sono sempre più numerosi gli studi di neuroimaging funzionale (RM funzionale, PET, SPECT) effettuati durante lo svolgimento di compiti linguistici o di problem solving sociale, che hanno permesso di identificare nei soggetti normali le strutture encefaliche coinvolte nella realizzazione di obiettivi mentali specifici (Anderson et al., 2003; Castelli et al., 2000; Dawson et al., 1998; Schultz et al., 2003). Diverse ricerche hanno permesso di rilevare che tali aree cerebrali in individui con autismo presentano spesso una minore attività.

Tali studi, peraltro, cominciano a fornire elementi a supporto dei vari modelli formulati, permettendo di individuare le strutture anatomiche che sottendono le funzioni ipotizzate.

3. FATTORI CAUSALI:

Fattori Ambientali:

La grandissima variabilità nella gravità dei sintomi con cui si manifesta l'autismo suggerisce l'intervento di una serie di fattori ambientali nell'eziopatogenesi della malattia.

Gravidanza e periodo neonatale: Qualsiasi condizione che interferisca con lo sviluppo del cervello può avere teoricamente effetti a lungo termine sulle funzioni sensoriali, linguistiche, sociali e mentali di un bambino, sì da determinare una sintomatologia autistica. Sono state, di volta in volta, chiamate in causa diverse situazioni, quali affezioni mediche interessanti la madre durante la gravidanza, problemi legati al parto o altri fattori ambientali (Gillberg et al., 1992). Allo stato attuale tuttavia, non è stata dimostrata alcuna significativa associazione fra una di tali noxae patogene e l'autismo. Peraltro, gli studi che sembrano indicare una maggiore incidenza di patologie perinatali

in popolazioni di soggetti autistici rispetto a gruppi di controllo rinforzano l'ipotesi secondo cui i soggetti con disordini geneticamente determinati abbiano una maggiore predisposizione ad una sofferenza pre- perinatale.

Tra i fattori ambientali da considerare, vi sono le esposizioni intrauterine o perinatali a virus e tossine, che potrebbero essere, direttamente o attraverso meccanismi immunomediati, gli effettori diretti del danno neurologico.

I numerosi studi che fino ad oggi sono stati condotti allo scopo di dimostrare la possibile associazione di tali fattori con l'autismo hanno tuttavia fornito risultati contrastanti e non ancora totalmente convincenti.

Un altro fattore di rischio ambientale che può aumentare la probabilità che si manifesti autismo è l'esposizione, durante il periodo prenatale, a sostanze chimiche teratogene come l'acido valproico (un farmaco antiepilettico) e il talidomide (un farmaco usato in passato come sedativo). In particolare è stato dimostrato che l'esposizione all'acido valproico durante le prime settimane di sviluppo embrionale può indurre nei ratti delle anomalie nel cervelletto simili a quelle osservabili nei soggetti autistici, supportando l'ipotesi che la sindrome possa derivare da alterazioni nella maturazione del sistema nervoso indotte nelle fasi di chiusura del tubo neurale. L'ipotesi che le alterazioni causanti l'autismo insorgano così precocemente nel feto sono suggerite anche dall'osservazione che circa il 5% dei soggetti esposti durante la vita intrauterina al talidomide hanno sviluppato la malattia. Tale percentuale è 30 volte maggiore di quella della popolazione generale. I difetti congeniti indotti dal talidomide variano a seconda del periodo di gestazione durante il quale è avvenuta l'esposizione al farmaco. Le malformazioni osservabili nei soggetti autistici esposti al teratogeno lascia pensare che il farmaco causi la malattia da 20 a 24 giorni dopo il concepimento, quando il sistema nervoso dell'embrione sta cominciando a svilupparsi .

Ereditarietà e geni:

Studi recenti sono fortemente suggestivi di una predisposizione genetica (Muhle et al 2004; S.L. Christian et al 2008; Benvenuto et al 2009; Judith H. Miles et al GeneReviews 2010). Molte indagini familiari confermano un ruolo importante svolto dall'ereditarietà nel determinismo del disturbo autistico:

- i gemelli monozigoti hanno probabilità maggiori rispetto ai gemelli eterozigoti di essere entrambi affetti da autismo;

- i genitori di un bambino autistico hanno un rischio di avere un altro bambino autistico (ricorrenza), che risulta da 50 a 100 volte maggiore rispetto al rischio per la popolazione generale (prevalenza);
- alcuni membri della famiglia di soggetti con autismo presentano caratteristiche comportamentali simili, anche se più lievi;
- alcune condizioni patologiche ereditate geneticamente, come la Sindrome dell' X Fragile e la Sclerosi Tuberosa, si presentano spesso in comorbidità con l'autismo.

Tali riscontri epidemiologici hanno spinto diversi gruppi di ricerca ad individuare i geni coinvolti nel determinismo dell'Autismo. L'evidenza più forte che è emersa da tali ricerche è che non esiste "il gene" dell'Autismo, ma esistono piuttosto una serie di geni che contribuiscono a conferire una vulnerabilità verso la comparsa del disturbo. I loci genici di maggiore interesse sono stati individuati sul cromosoma 7, sul 2, sul 16 e sul 15. Nella prospettiva già suggerita, in rapporto alla quale il quadro clinico dell'autismo rappresenta la via finale comune di una serie di disordini neurobiologici di fondo, è evidente che i geni implicati possono essere molteplici e di diversa natura. Va, pertanto, rivisto il paradigma rigido di "un-gene-un-disturbo". Normalmente, infatti, nel complesso progetto di sviluppo dell'encefalo si coordinano una serie di geni con funzioni diversificate (attivazione, modulazione, inibizione), dalla cui interazione si realizza la trama morfo-funzionale preposta all'utilizzazione dei dati esperienziali e alla loro organizzazione in sistemi di conoscenza e di relazione. Da tale prospettiva discendono due considerazioni fondamentali. La prima riguarda il fatto che se più geni con effetti diversi sono comunque inseriti in un unico processo, il deficit di uno qualsiasi di loro può condurre allo stesso risultato: la vulnerabilità all'autismo. La seconda considerazione attiene strettamente al concetto di vulnerabilità e riguarda il ruolo fondamentale dell'ambiente nell'attualizzazione di tale vulnerabilità. Il ruolo dell'ambiente va, infatti, considerato sia nella sua capacità di incidere "direttamente" sul genotipo, condizionando il complesso meccanismo di interazione genica, sia "indirettamente", slatentizzando un assetto neurobiologico geneticamente inadeguato all'elaborazione e alla metabolizzazione degli stimoli normalmente afferenti al sistema nervoso centrale.

Gli aspetti genetici del DSA verranno ulteriormente approfonditi nel capitolo 3 (Genetica dei Disordini del Neurosviluppo).

Immunologia e Vaccini:

Sebbene si sia da tempo sviluppato un certo interesse sulle relazioni tra autismo e malattie autoimmunitarie, al momento attuale non ci sono evidenze certe che meccanismi immunologici possano causare o contribuire all'emergenza delle anomalie organiche riscontrate nell'autismo. Il

coinvolgimento del sistema immunitario nell'eziopatogenesi dell'autismo è suggerito però da una serie di evidenze sperimentali. Esse mostrano come l'autismo abbia molte caratteristiche in comune con i più diffusi disordini autoimmuni fra cui la presenza di anomalie nel sistema immunitario e di meccanismi autoimmuni verso antigeni cerebrali. Per quanto riguarda le principali anomalie del sistema immunitario, è possibile innanzitutto osservare una riduzione, sia nel numero che nelle capacità funzionali, dei linfociti T, legata in particolare ad una diminuzione selettiva del numero delle cellule CD4+ (Jonk L.S. et al., 1990). E' inoltre possibile riscontrare in molti pazienti una riduzione dei livelli dell'attività citotossica delle cellule natural killer. Tale caratteristica è facilmente riscontrabile in molte patologie autoimmuni.

E' stata evidenziata inoltre una significativa diffusione di malattie autoimmuni nei familiari dei bambini autistici, fra cui il diabete di tipo 1, l'artrite reumatoide, l'ipotiroidismo e il lupus eritematoso sistemico (Comi A.M. et al. 1999).

Nel complesso, le ricerche condotte fino a questo momento suggeriscono la possibilità che le disfunzioni del sistema immunitario siano fra i fattori eziologici alla base della malattia. E' possibile infatti che deficienze nelle funzioni del sistema immunitario in concomitanza all'esposizione a fattori ambientali come i virus possano aumentare il rischio di autismo. Questo potrebbe avvenire a causa del danno diretto che il patogeno, riuscendo più facilmente a sfuggire alla risposta immunitaria, potrebbe causare sul sistema nervoso centrale. In altri casi, invece, l'infezione da parte del patogeno potrebbe scatenare la produzione di autoanticorpi diretti contro antigeni self del sistema nervoso, alterandone il funzionamento.

E' stata inoltre posta attenzione sull'ipotesi di una correlazione temporale stretta tra le vaccinazioni e la comparsa di alcuni comportamenti autistici.

Allo stato attuale però non ci sono dati che indichino che un qualsiasi vaccino aumenti il rischio di sviluppare autismo o qualsiasi altro disturbo del comportamento (Parker et al., 2004).

3. LA GENETICA DEI DISORDINI DEL NEUROSVILUPPO

L'associazione di specifiche cause genetiche con DI e/o DSA è stata stabilita in diversi modi; la prima correlazione è stata fatta con l'osservazione che questi fenotipi clinici si manifestano nei pazienti affetti da sindromi da causa genetica conosciuta. Successivamente sono state osservate le stesse anomalie cromosomiche per entrambe le patologie e, in seguito, le stesse variazioni di CNVs. Più recentemente con il sequenziamento esonico sono state scoperte ulteriori comuni anomalie.

Sebbene sia risaputo da più tempo che un grande numero di differenti varianti genetiche possono determinare la DI, le scoperte più recenti indicano che la stessa ampia eterogeneità genetica può essere alla base dei DSA. Per più di 100 loci c'è evidenza nella letteratura del ruolo causale nei DSA (Betancur, 2011).

Molti esempi indicano che differenti geni causativi riscontrati mutati nella DI o nei DSA o in entrambi i disordini convergono in vie neurobiologiche comuni.

Allo stato attuale delle conoscenze si pensa che molte cause genetiche siano correlate dal punto di vista neurobiologico (Vorstman JAS a Ophoff RA, 2013).

Per esempio si ipotizza che molti geni associati alla DI giochino un ruolo chiave nell'orchestrazione spaziale e temporale della neurogenesi. Ci si riferisce ai geni ASPM, MCPH1, CDK5RAP2, CENPJ. (Vaillend C, 2008). Altri geni associati alla DI sono fondamentali nella regolazione della migrazione neuronale (LIS1, DCX, TUBB3, RELN, ARX) (Liu JS, 2011).

Anche in riferimento all'autismo i report più recenti confortano l'ipotesi del fenomeno "differenti geni-stessa via".

IL DSA è associato a mutazioni dei geni SHANK3 (Phelan K, McDermid HE, 2012), NRXN1 (Schaaf CP et al, 2012), e NLGN3 e NLGN4 (Jamain S et al, 2012), NRXN2 (Gauthier J et al. 2011) e SHANK 2 (Leblond CS et al. 2012). Tutti geni che hanno un ruolo correlato nella sinaptogenesi.

Altri geni coinvolti sia nell'autismo che nella disabilità intellettiva sono i geni che agiscono nella via mTor, geni che regolano la crescita cellulare e la dendritogenesi: TSC1 e TSC2, NF1, PTEN, EEIF4E4, STRADA (Crino PB, 2011).

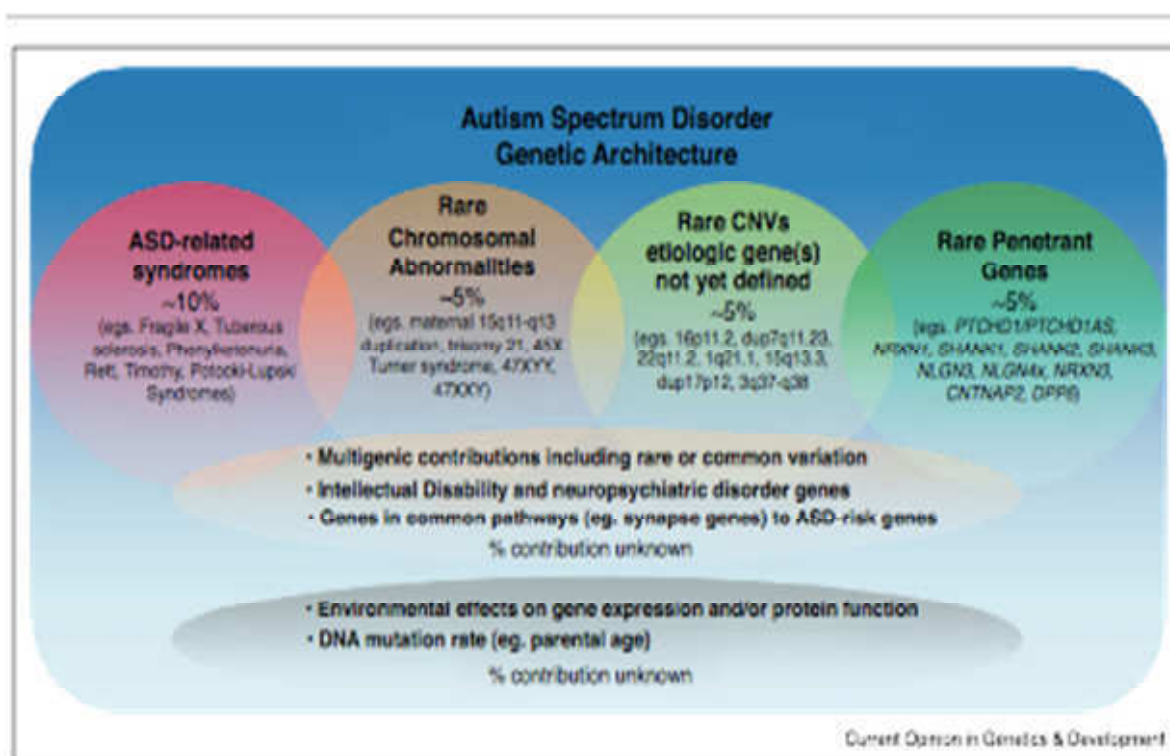
Nella grande maggioranza delle mutazioni si osserva una variabile penetranza, fatto che suggerisce che fattori addizionali genetici, e non genetici possano interferire sul fenotipo.

3.1 L'architettura genetica dei disordini del neurosviluppo

L'architettura genetica è ampiamente eterogenea, comprendendo un ampio *range* di anomalie che vanno dalle alterazioni citogenetiche di grande scale alle mutazioni puntiformi alle alterazioni epigenetiche.

Dall'avvento dell'analisi cromosomica con microarrays le cause genetiche sono state evidenziate, a seconda delle casistiche, in una percentuale variabile dei casi dal 5 al 35 % (Miller DT et al, 2010) e, nello specifico dei DSA, circa il 10-20% dei pazienti ha una eziologia genetica identificata (Betancur C, 2011).

Nella figura che segue (Devlin and Scherer, 2012) sono sintetizzate le quattro grandi categorie di anomalie genetiche causali dei DSA ma le stesse anomalie sono anche causali della DI. Si tratta infatti delle sindromi note, delle anomalie cromosomiche microscopicamente visibili, delle CNVs e delle anomalie dei singoli geni.



Vediamo ora le patologie genetiche suddivise in quattro gruppi principali:

- le sindromi
- le anomalie cromosomiche, comprendenti quelle visibili microscopicamente e quelle evidenziabili con gli arrays cromosomici
- le anomalie di singoli geni
- le anomalie epigenetiche.

3.1.1. Le sindromi

Le sindromi rappresentano una entità clinica, geneticamente possono essere determinate da anomalie numeriche dei cromosomi, come per esempio la sindrome di Down, da CNVs come la sindrome di Williams o da anomalie di singoli geni come la sindrome dell'X fragile o da anomalie epigenetiche come la sindrome di Prader Willi/Angelman o la sindrome di Rett.

Le principali sindrome genetiche associate all'autismo e alla DI sono la sindrome dell' X-Fragile e la Sclerosi Tuberosa (ST). Entrambe condividono, come sottostante meccanismo patofisiologico, una anomala traduzione del mRNA con eccesso di sintesi delle proteine, meccanismo questo coinvolto nei due disordini oggetto del nostro studio.

La sindrome dell'X-Fragile è determinata da una mutazione dinamica, un' instabile espansione del CGG repeat (>200 repeats) del gene FMR1 mappato su Xq27.3, che determina una anomala metilazione il silenziamento del trascritto e la diminuzione dei livelli della proteina FMRP nel cervello. La sindrome dell'X-Fragile spiega la metà circa di tutti i casi di RM legato al cromosoma X ed è la seconda causa di RM dopo la sindrome di Down. La prevalenza dell'autismo è del 30% e di un altro 30% se consideriamo forme di autismo lieve.

La sclerosi tuberosa, malattia autosomica dominante con alta penetranza ma variabile espressione clinica, è determinata da mutazioni che occorrono in due geni TSC1 e TSC2 mappati rispettivamente sul cromosoma 9q34 e 16p13.3. L'autismo è molto più frequente nei pazienti ST rispetto alla popolazione generale con una incidenza in questa popolazione del 30%, la DI è uno dei sintomi più frequenti in questa patologia.

3.1.2. Le anomalie cromosomiche

Le anomalie cromosomiche rappresentano la causa più comune di RM, contribuendo con il 15% circa dei casi (Leonard e Wen, 2002).

Tali anomalie sono suddivise in numeriche e strutturali:

- Anomalie cromosomiche numeriche (aneuploidie): le più frequenti sono le trisomie, tra cui la trisomia del cromosoma 21, che rimane la più importante forma genetica di DI (Rauch et Al, 2006), e le anomalie dei cromosomi sessuali (la 45,X sindrome di Turner; la 47XXY, sindrome di Klinefelter e la 47,XYY).
- Anomalie cromosomiche strutturali, visibili microscopicamente ed evidenziabili con il cariotipo a bandeggio. Con questo metodo sono diagnosticabili le macrodelezioni o le macroduplicazioni il cui potere risolutivo non supera le alterazioni di 5-10Mb, oltre che

traslocazioni e inversioni. Purtroppo queste analisi di citogenetica standard hanno il limite di non poter individuare alterazioni inferiori a 5-10Mb.

- *Anomalie cromosomiche strutturali evidenziabili tramite arrays cromosomici.* Negli ultimi anni, si è trovato che duplicazioni o delezioni di segmenti genomici contenenti 1Kb-5Mb di DNA definite come “smaller copy number variants, CNV” sono una causa importante di RM. I CNVs possono influenzare la funzione genica in molti modi. La delezione o distruzione di uno o più geni può determinare una perdita funzionale, con i CNVs agendo come alleli recessivi o dominanti a seconda della funzione cellulare del prodotto genico interessato. Oppure i CNVs possono distruggere un elemento regolatore, generare nuovi prodotti di fusione, o agire per effetto di posizione. Questi sono solitamente identificate tramite FISH (Fluorescence in Situ Hybridization). Tuttavia si tratta di una metodica molto lunga e specifica per l’analisi di uno o pochi loci in esame. La recente introduzione delle tecniche di studio dell’intero genoma ha rivoluzionato l’approccio finora usato per identificare le anomalie cromosomiche responsabili del RM ed ha anche rivoluzionato l’approccio clinico diagnostico dei pazienti affetti da ritardo di sviluppo e/o Disabilità intellettiva. Con il CGH-array (Comparative Genomic Hybridization) sono state evidenziate delezioni e duplicazioni submicroscopiche, riscontrate in numerosi loci, responsabili, come eventi de novo, del 5-10% dei casi (Christian et Al, 2008; Glessner et al, 2009; Marshall et al, 2008; Betancur, 2011). Questa metodica si basa sull’ibridazione comparativa del genoma del paziente e di un genoma di riferimento considerato normale su array contenenti cloni BAC o oligonucleotidi. La risoluzione dell’array-CGH è tra 0.5 e 15 Mb per i BAC e 40-100Kb per gli oligo, più elevata tra tutte le tecniche viste finora ed il suo utilizzo ha dimostrato che la frequenza di tali sbilanciamenti è decisamente maggiore rispetto a quella emersa dall’analisi tradizionale. Tuttavia questi arrays hanno il limite di fornire informazioni esclusivamente in merito al numero di copie. L’utilizzo della tecnologia dei GeneChip arrays invece, permette di studiare contemporaneamente SNPs e CNVs sparsi in tutto il genoma, fornendo contemporaneamente informazioni sui genotipi che possono essere utilizzate per implementare lo screening, identificando per esempio disomie uniparentali (UPD) senza variazioni del numero di copie, l’origine parentale dell’allele rimanente, eventuali errori mendeliani, per confermare la paternità all’interno dei trios, per studi di mappaggio per omozigosi in famiglie consanguinee. L’individuazione di CNVs potenzialmente causativi da tutti i dati che derivano dall’uso di questi arrays richiede analisi bioinformatiche essenziali per la visualizzazione e l’interpretazione dei risultati. L’utilizzo

di questa tecnologia in diversi studi indipendenti ha portato all'identificazione di CNVs *de novo* non presenti nei genitori dei probandi, quindi potenzialmente causativi in circa il 10-16% dei casi analizzati, circa il doppio di quelli trovati con analisi citogenetiche convenzionali. I CNVs sono solitamente polimorfismi benigni e non è facile determinare la natura patogenetica di un CNV trovato in un bambino con RM. Ci sono diversi fattori che possono essere usati per distinguere tra CNVs causativi e benigni. Un fattore che spesso aiuta è lo studio familiare. Un CNV che viene ereditato da un genitore affetto viene considerato difficilmente causativo, mentre uno che è presente *de novo*, è fortemente causalmente correlato, anche se ci sono come sempre delle eccezioni (mutazioni recessive, geni imprintati, geni X-linked trasmessi da madre a figlio.). Per questo è molto importante testare entrambi i genitori del probando per l'interpretazione dei risultati. E' estremamente difficile che CNVs osservati frequentemente in soggetti non affetti, siano causativi in un bambino con RM. E' importante a questo scopo comparare i CNVs trovati in pazienti con RM con quelli riportati nei database pubblici quali il Toronto Database of Genomic Variants (<http://projects.tcag.ca/variation>) or the Human Structural Variation Database (<http://humanparalogy.gs.washington.edu/structuralvariation/>). Alcuni CNVs si considerano patogeni perché sono osservati frequentemente in pazienti che condividono un fenotipo di RM comune oppure perché contengono geni ottimi candidati (per funzione e pattern di espressione, per appartenenza a famiglia o via di altri geni già trovati coinvolti in RM). Comunque la dimostrazione più evidente che un determinato CNV sia la causa di un RM si ha quando vengono identificate mutazioni in un gene all'interno della regione incriminata che producono lo stesso fenotipo clinico associato con il CNV.

3.1.3. Le sindromi da microdelezione o sindromi da geni contigui

La FISH è stata determinante nello studio di molte sindromi, chiamate anche sindromi da geni contigui, da microdelezione fra le quali ricordiamo alcune fra le più note: Prader Willi e Angelman (delezione 15q-q13), Williams (delezione 7q11.23), Smith Magenis (delezione 17p12), Di George (delezione 22q11.2 o 10q13-q14)

Brevemente illustriamo le sindromi di Prader Willi e di Angelman essendo esempio di sindromi da geni contigui ma anche di sindromi da alterazione epigenetica².

² Epigenetica. I meccanismi epigenetici sono responsabili di cambiamenti ereditabili delle funzioni del genoma senza alcuna modificazione nella sequenza del DNA. Si tratta di modificazioni del DNA e della cromatina che influenzano il genoma e l'espressione genica senza alterare il DNA stesso. L'epigenoma decide quale gene deve essere "ON" oppure "OFF" in una singola cellula, decide quando e dove accendere la trascrizione delle sequenze di DNA che guidano la normale crescita e differenziazione nello sviluppo fetale ed embrionale. Numerosi meccanismi epigenetici, quali la

La Sindrome di Prader Willi si caratterizza nel neonato per ipotonia e difficoltà di alimentazione e, successivamente, per iperfagia, obesità, ipogonadismo, dismorfismi, bassa statura, DI, turbe comportamentali e, in circa il 20% dei casi, epilessia. Diversi meccanismi genetici alla base della sindrome: il 70-75% dei casi è determinato dalla delezione della regione critica Prader Willi/Angelman (PWACR) 15q11.2-13 del cromosoma paterno. Il 25% circa da Disomia Uniparentale materna del cromosoma 15. il 1% circa da difetto del Centro dell'Imprinting.

La sindrome di Angelman è caratterizzata da grave DI con assenza del linguaggio, caratteristico comportamento, dismorfismi, microcefalia ed epilessia. Come la Prader willi la sindrome sottende diversi meccanismi genetici: delezione della regione critica PWACR del cromosoma 15 materno (70% dei casi), disomia uniparentale paterna (7% circa), difetti del Centro dell'*Imprinting* (3% circa), mutazioni del gene materno *UBE3A* (11% circa) e sconosciuta per circa 10 % dei pazienti.

Entrambi le sindromi sono associate all'imprinting genomico che è una forma di regolazione epigenetica nella quale i segnali epigenetici regolano l'espressione genica in modo specifico in relazione all'origine genitoriale (vedi le alterazioni epigenetiche).

La FISH ha quindi permesso la rapida conferma diagnostica delle sospette sindromi ed ha anche dato la possibilità di analizzare le regioni subtelomeriche le cui microdelezioni o duplicazioni sono responsabili del 2.5-5% dei RM precedentemente non spiegati (Ravnan et Al, 2006).

metilazione nelle isole CpG del DNA, le modificazioni covalenti delle proteine istoniche, RNA non codificanti, e altri meccanismi che controllano l'organizzazione della cromatina, lavorano di concerto per guidare l'espressione genica appropriata. Fra tutti questi, due meccanismi l'inattivazione del cromosoma X e l'imprinting genomico, sono particolarmente importanti nel mantenere il corretto pattern di espressione genica durante lo sviluppo precoce. L'inattivazione del cromosoma X è il paradigma della compensazione del dosaggio genico nelle femmine, determinando l'espressione monoallelica di molti geni X-linked. L'imprinting genomico si riferisce ai processi per i quali alcuni geni, che portano il marchio dell'origine genitoriale, hanno la capacità di guidare l'espressione genica monoallelica specifica dell'origine genitoriale in certi tipi di cellule e in specifici tempi dello sviluppo. Mentre alcuni segnali epigenetici sono stabili nel tempo altri presentano una plasticità evolutiva. Le alterazioni epigenetiche, epimutazioni causate da diversi meccanismi, determinano molte patologie umane fra le quali anche i disordini dell'imprinting. I due principali componenti del codice epigenetico sembrano essere la metilazione del DNA e le modificazioni della cromatina. Entrambi sono necessari per un corretto sviluppo e differenziamento, entrambi se mal controllati sono coinvolti in gravi patologie umane. La Metilazione ha due funzioni principali: l'inibizione dell'espressione genica e il mantenimento dell'integrità genomica attraverso l'inattivazione di sequenze parassite. Specifiche proteine come le DNA metiltransferasi (DNMT) stabiliscono e mantengono il pattern della DNA metilazione. Indirettamente la metilazione regola la struttura cromatinica e la sua accessibilità ai fattori di trascrizione. L'altro meccanismo che è coinvolto nell'espressione genica è rappresentato dalle modificazioni covalenti delle proteine istoniche che formano il cuore del nucleosoma. Le modificazioni delle proteine istoniche (acetilazione, deacetilazione, metilazione) influenzano la struttura della cromatina, l'interazione fra cromatina e fattori di trascrizione e la formazione dei complessi trascrizionali. I due meccanismi metilazione e modificazioni istoniche, non agiscono separatamente ma di concerto influenzando la struttura cromatinica e l'espressione genica. I difetti della regolazione epigenetica sono responsabili anche di malattie ereditarie, potendo essere la causa diretta ma anche causa associata. (Inbar-Feigenberg, 2013; Gos M, 2013)

La recente introduzione delle tecniche di studio dell'intero genoma ha portato ad un rapido incremento delle sindromi da microdelezione e microduplicazione, le cosiddette “nuove” sindromi. Alcune sono riportate nella tabella allegata.

Tabella 5: Le sindromi da microdelezione e microduplicazione associate a DI e patologie correlate (da Mefford et al, 2012).

Chromosome Region	Coordinates in Mb†	Deletion or Duplication Associated with Disorder	Selected References
1q21.1	Chromosome 1: 145.0–146.35	Deletion: intellectual disability, schizophrenia, multiple congenital anomalies Duplication: intellectual disability, autism	Brunetti-Pierri et al., ²² Mefford et al., ²³ International Schizophrenia Consortium, ²⁴ Stefansson et al., ²⁵ Greenway et al., ²⁶ Haldeman-Englert and Jewett ²⁷
3q29	Chromosome 3: 197.4–198.9	Deletion: intellectual disability, schizophrenia Duplication: intellectual disability	Ballif et al., ²⁸ Lisi et al., ²⁹ Willatt et al. ⁴⁰
10q22-q23	Chromosome 10: 81.12–89.07	Deletion: intellectual disability	Balciuniene et al., ⁴¹ van Bon et al. ⁴²
15q11.2	Chromosome 15: 20.3–20.7	Deletion: intellectual disability, schizophrenia, epilepsy	Stefansson et al., ²⁵ de Kovel et al., ⁴³ Mefford et al., ⁴⁴ Burnside et al., ⁴⁵ Doornbos et al., ⁴⁶ Murthy et al., ⁴⁷ von der Lippe et al., ⁴⁸
15q13.3	Chromosome 15: 28.7–30.2	Deletion: intellectual disability, epilepsy, schizophrenia, autism	Stefansson et al., ²⁵ Helbig et al., ⁴⁹ Sharp et al., ⁵⁰ van Bon et al., ⁵¹ Ben-Shachar et al., ⁵² Pagnamenta et al., ⁵³ Miller et al. ⁵⁴
15q24	Chromosome 15: 72.2–73.8	Deletion: intellectual disability, autism	Andrieux et al., ⁵⁵ Sharp et al., ⁵⁶ Mefford et al., ⁵⁷ El Hattab et al. ⁵⁸
16p11.2 (a)	Chromosome 16: 29.5–30.1	Deletion: intellectual disability, autism, obesity Duplication: schizophrenia	Weiss et al., ²⁹ Battaglia et al., ⁵⁹ Bijlsma et al., ⁶⁰ Hempel et al., ⁶¹ Shinawi et al., ⁶² Jacquemont et al., ⁶³ Walters et al., ⁶⁴ McCarthy et al. ⁶⁵
16p11.2 (b)	Chromosome 16: 28.7–29.0	Deletion: intellectual disability, obesity	Bachmann-Gagescu et al., ⁵⁶ Bochukova et al. ⁶⁷
16p12	Chromosome 16: 21.8–22.4	Deletion: intellectual disability	Girirajan et al. ⁶⁸
16p13.11	Chromosome 16: 15.4–16.4	Deletion: intellectual disability, epilepsy, autism, schizophrenia Duplication: intellectual disability, ADHD, autism	de Kovel et al., ⁴³ Mefford et al., ⁴⁴ Heinzen et al., ⁶⁹ Williams et al., ⁷⁰ Ullmann et al., ⁷¹ Krov et al. ⁷²
17q12	Chromosome 17: 31.8–33.3	Deletion: intellectual disability, autism, schizophrenia	Moreno-De-Luca et al., ⁷³ Loirat et al. ⁷⁴
17q21.3	Chromosome 17: 41.0–41.7	Deletion: intellectual disability	Koolen et al., ²⁰ Sharp et al., ²¹ Shaw-Smith et al., ²⁴ Koolen et al. ⁷⁵

Una delle più frequenti sindromi da microdelezione è la sindrome da delezione 1p36 la cui incidenza è di 1 su 5000 nati vivi. Questa sindrome spiega lo 0,5-1,2% delle DI idiopatiche. E' caratterizzata da microcefalia e microsomia, ipotonia, cardiopatia, epilessia, malformazioni cerebrali, dismorfismi caratteristici. Il 100% dei pazienti manifesta Ritardo dello sviluppo/DI e solo pochi DSA (Battaglia et al, 2008).

Altre microdelezioni o microduplicazioni si manifestano con fenotipi variabili, anche in relazione alla delezione o duplicazione del segmento, e con un range di gravità molto ampio. E' questo il caso delle Sindromi caratterizzate da CNVs a carico di 1q21.1, 15q13.3, 16p13.11, 16p11.2 e 22 q11.2.

La sindrome microdelezione/microduplicazione 1q21.1 è associata ai disordini del neurosviluppo, micro o macrocefalia. La DI associata è di grado variabile mentre il 7% dei pazienti con la delezione e il 30% di quelli con la duplicazione presentano sintomi dello spettro autistico. La costellazione dei dismorfismi riportati non è uniforme in tutti i pazienti riportati in letteratura. Sia la delezione che la duplicazione sono state riportate in genitori sani e in controlli (Brunetti-Pierri et al, 2008).

Un altro esempio di eterogeneità fenotipica è quella riscontrata in associazione alle delezioni 16p11.2. Identificate in pazienti affetti da Autismo sono anche state ritrovate in pazienti con DI associata o meno ad obesità e in assenza di dismorfismi costantemente presenti.

Molte nuove sindromi sono state identificate in pazienti che condividono lo stesso fenotipo quali per esempio la microdelezione 17q21.31 caratterizzata da DI di grado moderato-grave, ipotonia, dismorfismi facciali, anomalie cardiache e renali e crisi epilettiche.

Per diverse sindromi dobbiamo evidenziare ancora quelle situazioni nelle quali il fenotipo clinico della microdelezione/microduplicazione è determinato dal coinvolgimento di un singolo gene; esempi sono il gene SHANK3 coinvolto nella sindrome di Phelan-McDermid o 22q13 *deletion syndrome* o il gene EHMT1 per la sindrome Kleefstra, la 9q34.3 *microdeletion syndrome*.

L'autismo è un tratto frequente nella sindrome di Phelan McDermid ed è stato riportato in pochi casi con duplicazione 22q13 includente il gene SHANK3 (Durand et al 2007). Il quadro clinico è caratterizzato da Ritardo di sviluppo/DI, talvolta di grado grave-profondo, linguaggio assente, ipotonia, dismorfismo e diminuzione della sudorazione. Il CNV può essere *de novo* o ereditato.

la sindrome Kleefstra è determinata dalla delezione 9q34.3. La delezione può essere di varia dimensione ma include sempre il gene EHMT1 dalla cui delezione dipende il quadro clinico, come dimostrato anche dal fatto che il 25% dei pazienti presenta mutazioni intrageniche. Il quadro clinico è caratterizzato da tipici dismorfismi facciali, microcefalia, ipotonia e DI. Alcuni pazienti presentano DSA (Kleefstra T, 2010).

3.1.4. Le anomalie di singoli geni

In questo ambito dobbiamo distinguere due categorie: la prima è quella, molto numerosa, di patologie ben delineate che, nella quasi totalità dei casi, associano il RM e in molti casi i DSA. Ci riferiamo alle malattie metaboliche (organicoacidurie, aminoacidopatie, anomalie del ciclo

dell'urea, malattie lisosomiali alterazioni del metabolismo degli acidi nucleici, malattie perossisomiali, malattie mitocondriali, etc); ma anche alle malattie neurocutanee, neuromuscolari e malformative del SNC.

L'altra categoria riguarda alterazioni di geni sia autosomici che X-linked responsabili di quadri sindromici prima fra tutti per importanza e frequenza la sindrome dell'X-fragile senza, peraltro, trascurare da un lato tutti i RM sindromici da singolo gene quali per esempio, la sindrome Brachmann-de Lange, la Pitt-Hopkins, la Kabuki e dall'altro il grande capitolo del RM legato al cromosoma X.

Un gruppo separato è rappresentato dai geni responsabili dell'X-linked MR (XLMR). Facciamo nostra la figura di Betancur, 2011 che rappresenta i geni implicati nel Ritardo Mentale X-linked sindromico e non sindromico, anche se, come sottolineato dall'autrice, la distinzione non è precisa dato che la mutazione dello stesso gene è stata descritta in entrambe le forme cliniche.

L'architettura genetica dei DSA e della DI è molto simile: molti geni e molti disordini genetici ognuno dei quali spiega una piccola frazione di casi. Infatti tutte le cause genetiche dei DSA sono anche cause della DI, indicando che questi due disordini condividono le basi genetiche. L'esempio molto chiarificante è quello del gene X-linked (NLGN4X) che codifica una proteina sinaptica di adesione cellulare. La prima mutazione fu descritta in una famiglia con due fratelli affetti da DSA, di cui uno anche con DI e un altro fratello con sindrome di Asperger e intelligenza normale (Betancur, 2011).

3.1.5 Le anomalie epigenetiche

Negli ultimi anni è diventato sempre più chiaro che le mutazioni di geni coinvolti in meccanismi epigenetici, sono associate a malattie umane. La disregolazione di questi geni, che controllano il meccanismo epigenetico porta ad un numero di sindromi denominate "sindromi epigenetiche" il cui numero continuerà a crescere in relazione alla continua scoperta dei meccanismi epigenetici. Ne è un esempio la mutazione della demetilasi istonica associata recentemente alla sindrome di Kabuki.

Le sindromi epigenetiche possono essere raggruppate in due gruppi: Il primo comprende le alterazioni dei geni che regolano le impronte genetiche (enzimi della metilazione o degli istoni); il secondo comprende i geni che sono regolati dalle impronte genetiche (geni improntati).

Per quest'ultimo gruppo il paradigma è rappresentato dalla Prader Willi-Angelman, disordini dell'imprinting genomico. L'imprinting genomico è una forma di regolazione epigenetica nella quale i segnali epigenetici orchestrano l'espressione genica in modo genitoriale-specifico. Esistono più di 60 geni improntati, molti prodotti dei quali lavorano nelle vie metaboliche regolando la crescita e il neurosviluppo. L'espressione della maggioranza dei geni improntati, raggruppati in particolari domini, è regolata da modificazioni epigenetiche ai Centri dell'Imprinting.

Le alterazioni molecolari dei due disordini sono state mappate nelle regioni 15q11-13, l'espressione dei geni all'interno di questo dominio improntato è regolato dal Centro dell'Imprinting. La Prader Willi si manifesta se avviene la perdita funzionale dei geni espressi in via paterna, viceversa si manifesta l'Angelman quando si ha la perdita funzionale del gene UBE3A in via materna.

Riportiamo di seguito la tabella dei meccanismi epigenetici alterati in alcune sindromi genetiche.

Tabella 6: Meccanismi epigenetici alterati nelle sindromi genetiche (Huidobro C, Fernandez AF, 2013).

Implicated gene	Disease	Epigenetic alteration	References
DNA methylation			
<i>DNMT3B</i>	Immunodeficiency, centromeric instability, and facial anomalies syndrome	Mutations in <i>DNMT3B</i> sequence lead to chromosomal instability due to loss of methylation in repetitive DNA	[66, 137, 158, 334]
<i>MeCP2</i>	Rett syndrome	<i>MeCP2</i> mutations originate aberrant DNA methylation and histone acetylation and increase Line1 retrotranscription, disrupting brain function	[4, 261]
	Systemic lupus erythematosus	Mutations within <i>MeCP2</i> lead to aberrant DNA methylation and deregulate expression of autoimmune inflammatory-related genes	[298, 299]
<i>FMR1</i>	Fragile X syndrome	CGG repeat expansion within <i>FMR1</i> gene promoter causes transcriptional silencing via DNA hypermethylation	[103]
<i>FRG1, FRG2, ANT1, DUX4</i>	Facioscapulohumeral muscular dystrophy	Molecular rearrangements in D4Z4 induced hypomethylation and gain of function of nearby genes	[102, 339]
Histone posttranslational modifications			
<i>CBP, EP300</i>	Rubinstein-Taybi syndrome	Mutations in the HAT domain of <i>CBP</i> and <i>EP300</i> lead to aberrant histone acetylation	[170, 242, 268, 289]
<i>RSK2</i>	Coffin-Lowry syndrome	<i>RSK2</i> mutations disrupt histone phosphorylation and its interaction with CBP through the HAT domain	[61, 228]
<i>NSD1</i>	Sotos syndrome	Reduced histone methylation due to loss of function of mutated <i>NSD1</i> gene	[188, 201, 212]
<i>ITG15 (huntingtin)</i>	Huntington's disease	CAG repeat expansion generates a polyglutamine tract in huntingtin, which impedes binding to the HAT domain of CBP and inhibits its function, reducing acetylation levels.	[63, 127, 318]
Chromatin remodeling			
<i>ATRX</i>	α thalassemia X-linked mental retardation syndrome	Mutations in <i>ATRX</i> induce defective heterochromatin formation and hypomethylation of DNA repetitive sequences	[115, 118]
<i>CHD7</i>	CHARGE syndrome	Altered chromatin structure due to inefficient binding of CHD7-truncated protein to H3K4me3	[304, 349]
<i>CSB</i>	Cockayne syndrome	Mutations in <i>CSB</i> hinder its interactions with chromatin and blocking the nucleotide base excision repair mechanisms	[144, 190]

Fra le sindromi dovute a difetti della metilazione del DNA la più frequente e quella più associata a DI e DSA è la sindrome di Rett.

E' un disordine del neurosviluppo che si verifica quasi esclusivamente nelle femmine, caratterizzato da arresto dello sviluppo fra i 5-18 mesi, seguito dalla regressione delle competenze acquisite, perdita del linguaggio, movimenti stereotipati, microcefalia, crisi epilettiche e DI. E' determinata, nell'96% dei casi da mutazioni del gene MECP2, mappato su Xq28, che codifica per una proteina *methyl CpG binding*.

Un altro gruppo di sindromi è quello legato alle modificazioni istoniche, fra queste ricordiamo la sindrome di Rubinstein Taybi, la sindrome Kleeftstra, la sindrome di Kabuki, la sindrome di Weaver. Tutte queste, pur con notevoli diversità fenotipiche presentano sia la DI che il DSA.

Un altro gruppo è quello delle sindromi dovute a mutazioni dei rimodellatori della cromatina, fra queste quelle che più frequentemente associano DI sono la sindrome ATRX (Alfa-talassemia-Ritardo Mentale X linked), la CHARGE, la Coffin Siris. Riportiamo di seguito la tabella delle mutazioni epigenetiche nelle linee germinali.

Tabella 7: Mutazioni epigenetiche nelle linee germinali (Berdasco M, Esteller M, 2013).

Hum Genet (2013) 132:359–383 363

Table 1 continued

Gene	GeneID ^a	Cytogenetic location	Function	Disease	OMIM ^b	References
SMARCB1	6598	22q11.23	SWI/SNF complex	Coffin-Siris syndrome	135900	Tsurusaki et al. (2012)
SMARCA4	6597	19p13.2	SWI/SNF complex	Coffin-Siris syndrome	135900	Tsurusaki et al. (2012)
SMARCA2	6596	9p24.3	SWI/SNF complex	Coffin-Siris syndrome	135900	Tsurusaki et al. (2012)
SMARCA2	6596	9p24.3	SWI/SNF complex	Nicolaides-Baraitser syndrome	601358	Van Houdt et al. (2012)
ARID1A	8289	1p36.11	SWI/SNF complex	Coffin-Siris syndrome	135900	Tsurusaki et al. (2012)
ARID1B	57492	6q25.3	SWI/SNF complex	Coffin-Siris syndrome	135900	Tsurusaki et al. (2012)
SRCAP	10847	16p11.2	SRCAP complex	Floating Harbor syndrome	136140	Hocé et al. (2012)
CDH7	55636	8q12.1	CHD complex	Coloboma of the eye, Heart Anomaly, choanal Atresia, Retardation, Genital And Ear Anomalies syndrome (CHARGE)	214800	Sanlaville et al. (2006)
CDH7	55636	8q12.1	CHD complex	Hypogonadotropic hypogonadism 2 with or without anosmia	147950	Kim et al. (2008)
Mutations associated with non-coding RNAs						
DICER1	23405	14q32.13	miRNA processing	Coiter, multinocular 1, with or without Sertoli-Leydig cell tumors	138800	Rio Frio et al. (2011)
TDP-43	23435	1p36.22	miRNA processing	Amyotrophic lateral sclerosis	612069	Ling et al. (2010)
FMRP	2332	Xq27.3	miRNA processing	Fragile X syndrome	300624	Edbauer et al. (2010)
DGCR8	54487	22q11.21	miRNA processing	DiGeorge syndrome	188400	Shibama et al. (2003); Stark et al. (2008)

CHD chromodomain helicase DNA-binding protein, DNMT DNA methyltransferase, HAT histone acetyltransferase, HDAC histone deacetylase, HDMT histone demethylase, MDB methyl DNA-binding domain protein, HMT histone methyltransferase, SRCAP Src2-related CREBBP activator protein, STAGA SPT/TAF9/GCN5 transcription coactivator complex, SWI/SNF SWI6b/sucrose non fermentable

^a Identification in Entrez Gene database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)

^b Identification in Online Mendelian Inheritance in Man (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)

Le ricerche finora compiute suggeriscono che l'epigenetica gioca un ruolo molto importante nei DSA, nella DI ma anche in molti altri disordini neuropsichiatrici. La caratterizzazione dei determinanti epigenetici specifici contribuisce alla spiegazione dell'eziologia e nuove tecnologie di screening della metilazione del DNA e delle alterazioni della cromatina dell'intero genoma faciliteranno l'identificazione di ulteriori fattori causali dei disordini del neurosviluppo.

Finora comunque non tutto è così lineare, infatti non sempre le diversità osservate necessariamente rendono ragione della malattia. Sappiamo infatti che c'è una variazione fisiologica epigenetica in risposta a stimoli interni ed esterni, che lo stato epigenetico della cellula è tessuto specifico (a differenza del genotipo identico in tutte le cellule somatiche di un organismo) e che il profilo epigenetico varia in maniera significativa fra i differenti tipi di cellule. L'epigenoma dei tessuti facilmente accessibili (sangue, cellule della mucosa buccale), quindi, non riflette l'epigenoma degli organi interessati dalle patologie. Inoltre l'epigenoma varia anche con l'epoca di acquisizione dei campioni e gli stessi campioni possono presentare una importante eterogeneità cellulare.

Nonostante queste difficoltà, portare avanti gli studi sull'epigenetica è di grande valore in relazione ad una delle principali caratteristiche dei meccanismi epigenetici, quella della reversibilità, rendendo quindi le malattie potenzialmente curabili con terapie farmacologiche, i farmaci epigenetici. Si stanno rapidamente sviluppando farmaci quali gli agenti demetilanti o gli inibitori dell'acetilazione aprendo la possibilità di approcci terapeutici per molte malattie. Sono ancora in fase molto iniziale, ma avviate, le ricerche per la sindrome di Rubinstein Taybi e per la Rett (Berdasco M, Esteller M, 2013; Huidobro C, Fernandez AF, 2013; Grafodatskaya D et al, 2010).

4. LE SINDROMI MALFORMATIVE

E' necessario un breve cenno sulle sindromi malformative e su alcuni aspetti che verranno affrontati nel corso di questa tesi.

Il 2–3 % dei nati vivi presenta una o più malformazioni maggiori congenite . Esempi in questo senso sono rappresentati dalle cardiopatie congenite, dai difetti di chiusura del tubo neurale, dalle anomalie strutturali dell'apparato urinario o genitale ecc. Ogni organo e apparato può essere coinvolto con gravità e conseguentemente, ricadute cliniche e prognostiche, estremamente variabili. Di fronte a un neonato o un bambino che presenti uno di questi problemi, il neonatologo o il pediatra deve sempre porsi una prima importante domanda: la malformazione congenita presente nel paziente rappresenta un difetto isolato o la punta dell'iceberg di un quadro clinico più complesso, di una sindrome malformativa appunto?

Questi differenti problemi clinici riconoscono una causa unica, spesso, ma non necessariamente, legata a un'anomalia del patrimonio genetico del soggetto affetto.

Si definisce sindrome malformativa una condizione clinica caratterizzata dalla concomitanza, e variabile combinazione, di più problemi afferenti a una delle seguenti quattro categorie: malformazioni maggiori, malformazioni minori, anomalie in difetto o in eccesso dello sviluppo staturò-ponderale, anomalo sviluppo psicomotorio (Merks JHM et al 2003).

Seguono altre definizioni:

- *Malformazione maggiore:* difetto morfologico di un organo, di una sua parte o di un'area più grande del corpo, che rappresenti l'esito di un processo di sviluppo embrionario intrinsecamente anomalo
- *Malformazione minore:* anomalia congenita di scarso significato medico o chirurgico che può comunque avere importanza dal punto di vista estetico.
- *Deformazione:* anomalie di forma o posizione di una parte del corpo, causate da forze meccaniche che agiscono su una struttura fino a quel momento sviluppatasi normalmente.
- *Displasia:* anomala organizzazione o funzione cellulare che causa alterazioni strutturali.
- *Sequenza malformativa:* difetto congenito primitivo che determina altre malformazioni o deformazioni a cascata.
- *Sindrome:* presenza contemporanea di più difetti della morfogenesi, anomalie minori, difetti antropometrici sulla base di un'unica causa.

- *Anomalie fondamentali*: sono rappresentate da quelle caratteristiche assolutamente peculiari di quel quadro clinico, che hanno il peso diagnostico maggiore nella formulazione del sospetto clinico;
- *Anomalie occasionali*: rappresentano quelle anomalie (spesso costituite dalle malformazioni maggiori più comuni) che sono presenti con una frequenza significativamente maggiore nei soggetti con una determinata condizione clinica, ma la cui presenza/assenza non costituisce una *conditio sine qua non* per la diagnosi;
- *Complicanze mediche*: sono rappresentate da tutte quelle problematiche cliniche funzionali che presentano una frequenza aumentata nei pazienti affetti rispetto alla popolazione generale e rappresentano la base conoscitiva fondamentale per impostare i controlli nel tempo. In analogia alle anomalie occasionali il loro peso diagnostico è relativo.

4.1. Come e quando sospettare una sindrome?

Gli scenari ipotizzabili sono molto differenti in termini clinici e di cronologia. Genericamente sono ipotizzabili una serie di differenti situazioni:

1. *Quadro plurimalformativo e dismorfico già evidente in modo eclatante alla nascita:*

Il bambino mostra sin dalle prime giornate di vita la presenza di più di una malformazione maggiore associata o meno a problemi di accrescimento intrauterino e a evidenti dismorfismi a carico del viso. Si tratta della situazione in cui pensare a una patologia costituzionale è più facile e in cui viene, sin dall'inizio, attivato un percorso diagnostico specifico che potrà portare o meno, sin dal periodo neonatale, al raggiungimento di una diagnosi precisa;

2. *Riscontro neonatale di una malformazione maggiore (per esempio cardiopatia congenita o labiopalatoschisi) in assenza di evidenti note dismorfiche, problemi di accrescimento o malformazioni maggiori associate:*

Il bambino viene dimesso e affidato alle cure del pediatra di libera scelta e dello specialista competente per quanto riguarda la malformazione diagnosticata. Nel corso dei primi mesi/anni di vita, però, il paziente sviluppa problematiche cliniche nuove in termini di crescita e/o sviluppo psicomotorio; anche il suo aspetto somatico dimostra in modo sempre più evidente la presenza di note dismorfiche. Sarà il pediatra di libera scelta a sospettare la presenza di un quadro sindromico e indirizzare il paziente alle opportune valutazioni;

3. *Decorso neonatale completamente normale; la diagnosi di malformazione maggiore, anomalie dell'accrescimento e dello sviluppo psicomotorio viene posta solo nel corso dei primi mesi/anni di vita:*

È il pediatra di libera scelta il primo specialista che può ipotizzare la presenza di un'unica causa unificante i diversi problemi clinici.

4. Paziente che non mostra problematiche malformative maggiori, ma che sviluppa anomalie auxologiche associate a ritardo di sviluppo psicomotorio:

Anche in questo caso la figura professionale sentinella è rappresentata dal pediatra di libera scelta.

5. LA DISMORFOLOGIA

Per lo studio delle sindromi è importante collegare lo specifico fenotipo alla malattia in modo non ambiguo. In contesti medici, la parola "fenotipo" è usato per riferirsi ad una certa deviazione dalla morfologia normale, la fisiologia o il comportamento. L'analisi del fenotipo svolge un ruolo fondamentale nella pratica clinica e nella ricerca medica, e le descrizioni dei fenotipi clinici nelle pubblicazioni mediche sono spesso imprecisi. Il campo emergente della medicina di precisione mira a fornire le migliori cure disponibili per ciascun paziente sulla base di stratificazione in sottoclassi-malattia. La parola fenotipo è usata con molti significati diversi. In biologia, la definizione più accettata di fenotipo è "le caratteristiche osservabili di un organismo. "Anche se almeno cinque definizioni del fenotipo sono in uso nella letteratura biologica [Mahner e Karys, 1997], da qui abbiamo preso la definizione di fenotipo in biologia per indicare la raccolta di tratti osservabili in un organismo, che comprende la sua morfologia, la sua fisiologia a livello della cellula, l'organo, il corpo, il suo comportamento, comprendente caratteristiche anche tali come i profili di espressione genica in risposta a stimoli ambientali [Nachtomy et al., 2007]. In contesti medici, tuttavia, la parola "Fenotipo" è più spesso utilizzato per riferirsi a qualche deviazione da normale morfologia, fisiologia, o il comportamento. Forse, la responsabilità più importante dei medici è quella di osservare il fenotipo dei pazienti, sia raccogliendo l'anamnesi o mediante un esame fisico, la diagnostica per immagini, esami del sangue, test psicologici, e così via, al fine di effettuare la diagnosi. Questa è una delle aree in cui la medicina si avvicina ad essere una scienza: facciamo osservazioni sul fenotipo, ricaviamo un'ipotesi (chiamata "diagnosi"), testiamo la nostra ipotesi. Nella misura in cui la medicina è una scienza, il nostro obiettivo dovrebbe essere quello di rendere le nostre ipotesi diagnostiche quanto più precise e tempestive possibile. Tuttavia, effettuare la diagnosi può essere uno dei compiti più impegnativi per il medico, e questo è in particolare il caso per le malattie rare, con attualmente oltre 8.000 malattie conosciute e presumibilmente molte migliaia in più in attesa di essere scoperte e classificate. In un sondaggio relativo ad una comune malattia rara come la sindrome di Marfan, si è riscontrato che il 25% dei pazienti ha aspettato da 5 a 30 anni per una diagnosi e che l' iniziale diagnosi era sbagliata nel 40% dei casi [di EURORDIS, 2007]. Anche se le statistiche esatte non sono disponibili, è lecito ritenere che la situazione è ancora peggiore per la maggior parte delle altre malattie rare. I principali problemi clinici derivano da una diagnosi tardiva o imprecisa, compresi i trattamenti, procedure diagnostiche, inutili ritardi e un peso psicologico per i pazienti e le famiglie a causa della persistente incertezza circa la causa e la prognosi dei loro problemi. Lo studio del fenotipo comprende anche la completa comprensione dettagliata dello spettro di anomalie fenotipiche associata a ciascuna entità di malattia. Con questa

conoscenza in mano, i medici sono in grado di decidere se un segno o sintomo, con cui si presenta un paziente, è legato ad una malattia sottostante o è una caratteristica isolata, una decisione che può aiutare i trattamenti e rendere la prognosi corretta. Infine, la conoscenza piena di anomalie dello spettro fenotipico associati con una malattia può aiutare a prevenire le complicanze o almeno riconoscere loro in una fase sufficientemente precoce. (Robinson 2012)

Diventa quindi essenziale conoscere quell'area della genetica medica che si occupa dei difetti congeniti. La dismorfologia, infatti è il termine, coniato da D.W. Smith nel 1966 che ha sostituito nell'uso corrente il vocabolo teratologia. La Dismorfologia Clinica ha la finalità di descrivere associazioni tra quadri clinici dismorfologici e profili (fenotipi) comportamentali di sindromi neurogenetiche con disabilità intellettiva, disturbi dello spettro autistico, disturbi della condotta.

La diagnosi in dismorfologia utilizza due tipi di approccio: diagnosi immediata a colpo d'occhio con fenotipo conclamato nota anche come "Gestaltica", oppure diagnosi analitica in caso di fenotipo attenuato non immediatamente riconoscibile per cui si va alla ricerca delle "maniglie diagnostiche" e dei segni minimi.

Ci si avvale dell'utilizzo delle più recenti pubblicazioni e dei più aggiornati database al fine di poter fare diagnosi quanto più accurate e rapide.

Un importante contributo alla dismorfologia è stato quello pubblicato nel 2009 sull'American Journal of Medical Genetics dal titolo "*Elements of Morphology: standard terminology*", il cui commento editoriale venne fatto da John Carey, uno dei più importanti Dismorfologi e co-autore degli articoli. Tale progetto è iniziato nel 2005 dalla necessità di sviluppare un vocabolario di termini e definizioni standardizzati per descrivere le variazioni fisiche utilizzate nell'analisi del fenotipo umano. Questo progetto ha portato alla creazione di sei grandi articoli contenenti più di 400 variazioni del fenotipo umano caratterizzanti:

- Capo e viso
- Regioni periorbitali
- Orecchio, naso e filtro naso-labiale
- Bocca e labbra
- Mani e piedi.

Alla descrizione del dismorfismo viene associata l'immagine della parte anatomica descritta e la rappresentazione fotografica delle anomalie riportate, come illustrato nell'esempio riportato nella Fig. 4.

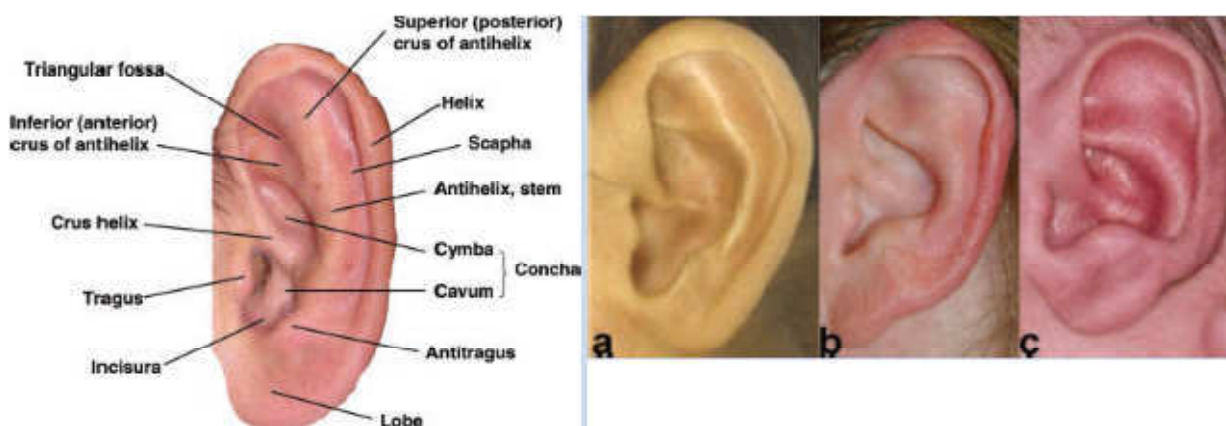


Figura 4: Sulla destra la descrizione delle singole parti anatomiche dell'orecchio; sulla sinistra le varie anomalie dell'antielice (Hunter A. et al.,2008).

Tali articoli sono stati pubblicati nel gennaio 2009 su American Journal of Medical Genetics Part A. Il lavoro è iniziato nel 2005. Vennero individuati, 34 esperti appartenenti ai 3 continenti, Nord-America, Europa e Australia, riuniti per un primo incontro a Roma nel 2006. I 34 membri sono stati quindi divisi in sei sottogruppi di lavoro; i capigruppo hanno assegnato 10-15 termini/caratteristiche ad ogni membro del relativo sottogruppo, ai quali è stato dato il compito di definire ogni singola caratteristica e di proporre una definizione standardizzata, accompagnandola alla rappresentazione grafica della parte anatomica studiata e dove possibile associata anche ad una lista di sinonimi.

Il progetto iniziale era quello di delineare le definizioni di tutti i termini presenti nel London Dysmorphology Data Base (LDDDB), una risorsa informatica per la diagnosi sindromologica. In questo modo venne analizzata una lista iniziale di 683 termini, convenendo sul fatto che questi fossero i più utili per un preliminare processo di definizione. Vennero quindi analizzati più nello specifico le anomalie dei segmenti della regione cranio-facciale e di mani e piedi. La scelta ricadde su tali aree, in quanto si ritenne fossero quelle che maggiormente caratterizzano una sindrome. In questo modo la lista di termini del LDDDB venne ridotta a 400 termini.

Durante i vari incontri si è cercato anche di rimuovere dalle definizioni tutti i termini peggiorativi, quelli indicanti uno o più caratteristiche comuni (ad es. naso largo) e quelle caratteristiche per la cui definizione sono necessarie indagini radiografiche (ad es. ipodonzia e oligodonzia).

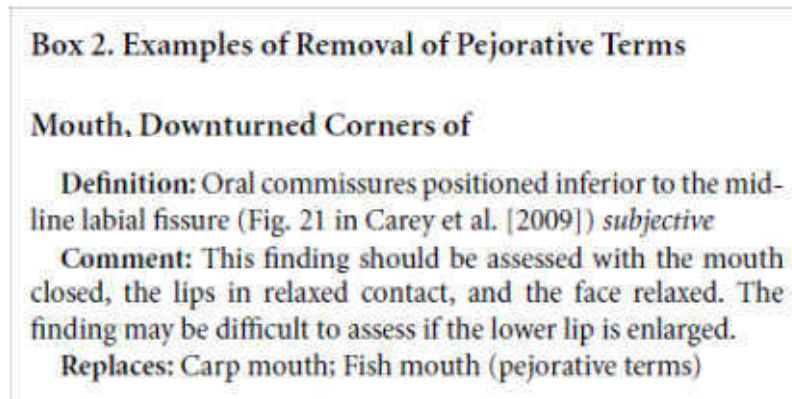


Figura 5: Esempi di termini peggiorativi che descrivono la regione periorale.

Gli aspetti patogenetici e le diagnosi differenziali relative ad ogni singola caratteristica, per quanto importanti, non sono stati presi in considerazione.

5.1. Human Phenotype Ontology.

I sistemi di codificazione e classificazione hanno una lunga storia in Medicina.

Mentre negli ultimi due secoli l'obiettivo è stato quello di creare termini medici per descrivere le singole patologie, gli ultimi e recenti sforzi sono stati rivolti a creare algoritmi computerizzati per analizzare le caratteristiche del fenotipo umano, utilizzando un vocabolario di termini che definisca segni, sintomi e altre manifestazioni delle malattie.

Nel campo della Genetica Umana una delle più importanti risorse è costituita dall'Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) Database, sviluppato nel corso di decenni dal professor Victor Mc Kusick e colleghi al Johns Hopkins University. OMIM rappresenta un immenso archivio, utilizzato per il lavoro routinario dei genetisti di tutto il mondo. Tuttavia non utilizza un vocabolario controllato per descrivere le singole caratteristiche fenotipiche. Ad esempio utilizza i sinonimi "*generalized amyotrophy*", "*generalized muscular atrophy*" e "*muscular atrophy, generalized*" nelle sinopsi cliniche delle differenti malattie. Sebbene un esperto possa non trovare problemi dal momento che tutte e tre le descrizioni si riferiscono ad una stessa caratteristica, questo non è possibile ad un sistema informatico. Pertanto una ricerca per "*generalized muscle atrophy*" nel website OMIM porta a 174 definizioni, mentre una ricerca per "*muscular atrophy, generalized*" porta all'identificazione di 96 risultati. Altre terminologie utilizzate per la diagnosi in genetica umana sono racchiuse nel London Dysmorphology Database (LDDDB), nel POSSUM e su Orphanet (Robinson PN et al, 201). I vocabolari utilizzati per questi database non sono esplicitamente designati per un'analisi bio-informatica e non sono open-source. Inoltre questi vocabolari non

comprendono abbastanza termini per permettere una descrizione precisa dello spettro delle anomalie fenotipiche delle malattie ereditarie.

L'ontologia è una disciplina filosofica che studia la natura dell'esistenza e ha l'obiettivo di capire come le cose nel mondo sono divise in categorie e come queste categorie sono collegate tra loro.

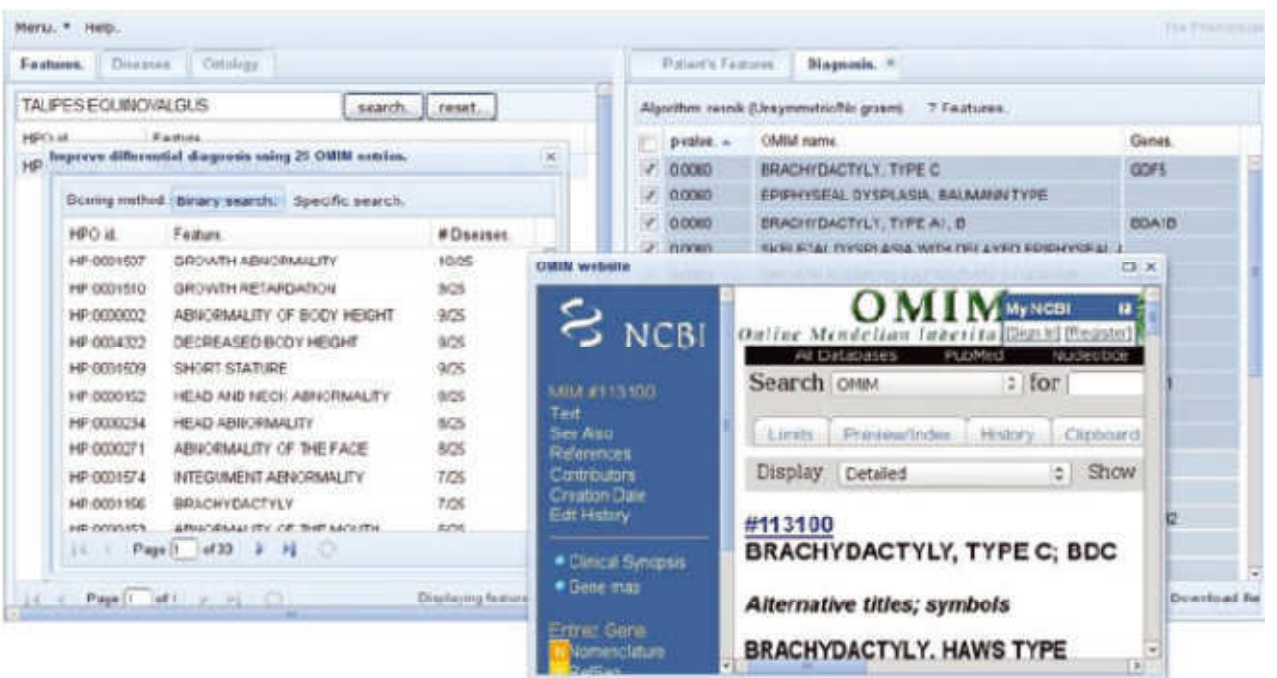
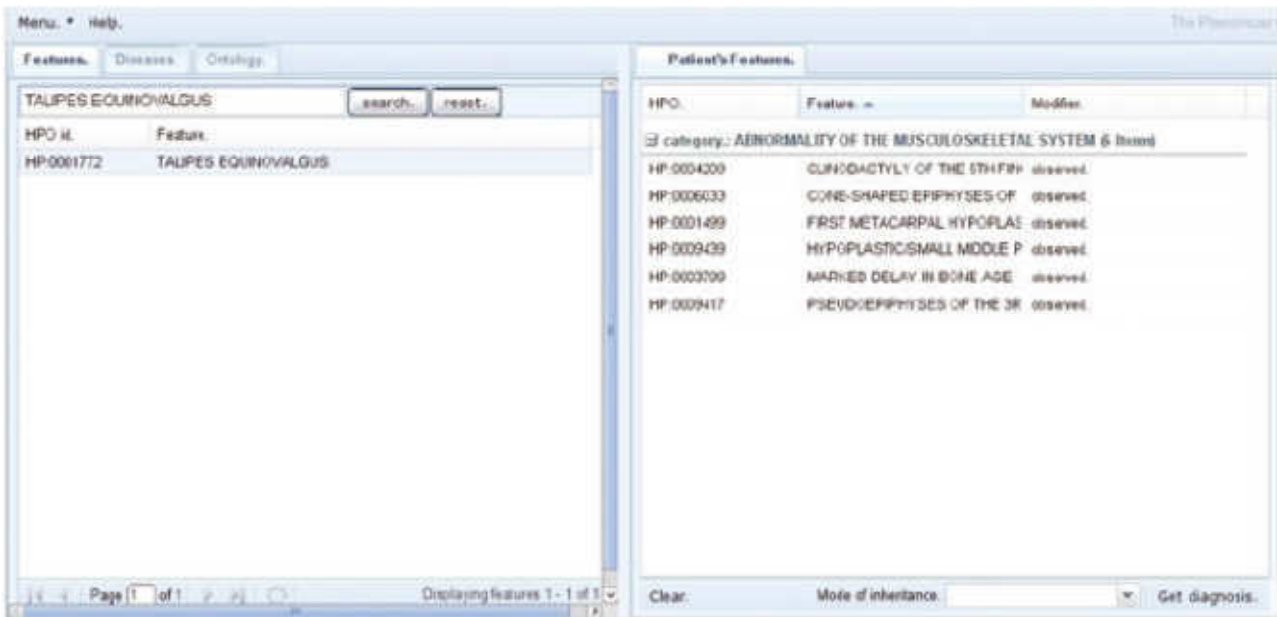
L'ontologia provvede a classificare le singole entità all'interno di un dominio. Ogni entità corrisponde ad un termine.

La Human Phenotype Ontology allo stato attuale contiene più di 9500 termini che descrivono caratteristiche fenotipiche. Inizialmente HPO è stato costruito utilizzando i dati di OMIM e sono stati creati legami semantici tra i termini per costruire la struttura ontologica. Allo stato attuale HPO è in via di espansione con la creazione di definizioni specifiche non originariamente trovate su OMIM. I termini HPO sono disposti secondo una struttura gerarchica. La procedura di ricerca si basa sull'importanza dello specifico termine utilizzato. Per esempio se vengono inseriti i termini "*downward slanting palpebral fissures*" le informazioni cliniche derivanti sono sicuramente maggiori rispetto a quelle che si otterrebbero se si inserissero i termini "*abnormality of the eyelid*". E' pertanto importante utilizzare i termini corretti, anche al fine di associare un determinato segno clinico ad una specifica patologia, basandosi su un calcolo probabilistico e consentire una diagnosi differenziale. L'obiettivo di HPO è quello di fornire ai clinici e ai ricercatori nel campo della genetica umana un vocabolario ontologico standardizzato e definito. Tuttavia tale vocabolario deve essere ancora definito e implementato in alcune aree specifiche cliniche. L'idea è quella di estendere le singole definizioni ad altre forme di patologie ereditarie, quali microdelezioni, CNV e aberrazioni cromosomiche.

Obiettivi futuri nelle tecnologie di alta definizione in genetica molecolare sono racchiusi nel concetto di "*diseasome*", un termine che si riferisce alla complessa relazione tra termini biochimici, genetici, cellulari, fenotipici che insieme sottendono ad una patologia umana. L'importanza di questo si è resa evidente in seguito all'identificazione di interazioni biochimiche la cui disfunzione porta a malattie fenotipicamente simili.

Nella pratica clinica è possibile utilizzare i termini HPO per la descrizione di dismorfismi, anomalie maggiori e minori, segni specifici di patologia, utilizzando dei software disponibili online. In particolare, accedendo alla pagina web <http://compbio.charite.de/phenomizer> di Phenomizer gli utenti inseriscono i termini HPO corrispondenti alle caratteristiche cliniche dei loro pazienti nella finestra "*Features*".

Nell'esempio che segue sono state inserite le varie caratteristiche fenotipiche della Brachidattilia di tipo C.



I termini selezionati sono indicati nella parte destra della finestra. Ogni caratteristica può essere considerata specifica se il clinico è sicuro che essa è correlata ad una determinata malattia (questo può essere più semplice se tutti i membri di una famiglia mostrano la stessa anomalia). Se questa caratteristica viene considerata specifica, tutte le patologie che non la comprendono vengono escluse. Una volta che vengono inserite tutte le caratteristiche cliniche, cliccando su *get diagnosis* si ottiene una serie di diagnosi differenziali connesse con la caratteristica specifica secondo un criterio di probabilità.

Phenomizer offre anche un'altra funzione: *"Improve differential diagnosis"*. Con questa è possibile identificare ulteriori caratteristiche cliniche che, quando presenti, possono individuare meglio una lista di patologie candidate.

Cliccando su *"Show OMIM entry"* si accede alla descrizione della patologia su OMIM. Il risultato della ricerca può essere esportato in formato pdf.

Tuttavia Phenomizer non deve essere considerato come un sistema esperto, ovvero un software che ha le capacità di riprodurre le performance di un clinico esperto, ma è piuttosto un sistema per esperti che possono utilizzarlo per la guida nel processo di diagnosi differenziale delle patologie genetiche (Kohler S. et al., 2009).

6. PERCORSO DIAGNOSTICO-TERAPEUTICO-ASSISTENZIALE

Come già detto la DI e i DSA sono condizioni che, determinando limitazioni di vario grado in tutti i settori del vivere quotidiano, destano molte preoccupazioni non solo nel ristretto ambito familiare ma anche nell'intera società. Rappresentano inoltre un importante capitolo di spesa per i sistemi sanitari essendo il costo assistenziale assai alto per l'intero arco della vita della persona affetta.

Oltre al carico finanziario, la cura del bambino, che successivamente diventerà adulto, coinvolge l'intero nucleo familiare dal punto di vista emotivo, relazionale, sociale ed economico.

Le cause infine sono multiple e molto variegata spaziando da quelle genetiche a quelle acquisite nelle varie epoche della vita.

Étiologie	RM grave (%) n = 79	RM léger(%) n = 99	Total (%)*
Anomalie chromosomique (examen conventionnel)	22	4	12 ¹ (Trisomie 21 : 10 %)
Syndromes génétiques connus et micro-délétions	13	12	12
Encéphalopathie dégénérative	8	0	3 ²
RM familial non spécifié	6	9	8
Syndrome malformatif non classé et malformations cérébrales	14	20	8 (malformations) 11 (SNC)
Acquis, prénatal	3	5	4,5 (toxique : 3 %)
Acquis, périnatal	3	5	4,5
Acquis, postnatal	5	1	3
Inconnu, RM isolé	4	32	20
Inconnu, RM+ psy/neuro	18	11	14 ³

Tabella 8: Suddivisione del Ritardo Mentale in base alle cause. (Verloes et al 2103)

Di fronte ad un bambino che presenta problemi di sviluppo il clinico dovrà non solo precisare di quale disordine del neurosviluppo si tratta ma anche dovrà cercare di stabilire l'anomalia causale che sottende il disturbo stesso. La risposta a quest'ultimo quesito dipende da molte variabili e quindi non sarà una risposta semplice pur sapendo che in genere quanto più è grave il disordine ed è associato ad altre anomalie tanto più alta sarà la probabilità di trovare la causa.

Dalla premessa su descritta deriva che la diagnosi del disordine può essere condotta su due livelli.

A) Primo livello diagnostico ci consente di precisare esattamente da quale specifico disturbo sia affetto il paziente: DI o DSA e di quantificarne la gravità, le capacità residue, l'adattamento alla vita sociale e così via. In questo modo il paziente potrà essere indirizzato agli interventi di cura, riabilitativi e socio sanitari che si riterranno per lui più adeguati.

Si tratta quindi di specificare con l'anamnesi, l'esame clinico, lo studio psicopatologico, la somministrazione di test di intelligenza e scale di valutazione comportamentali, il preciso disturbo e l'eventuale co-morbidità.

Riportiamo una tabella con i principali test utilizzati.

Type	Nom	Âges
Tests cognitifs généraux	Wechsler préscolaire (WPPSI-III : Wechsler preschool and primary scale of intelligence)	3 ans-7 ans
	Wechsler enfant (WISC-IV : Wechsler intelligence scale for children)	6 ans-16 11/12
	Wechsler adulte (WAIS-III : Wechsler adult intelligence scale)	> 16 ans
	NEPSY (developmental neuropsychological assessment)	3 ans-16 11/12
Tests de développement	Brunet-Lezine révisé	1 mois-30 mois
	PEP-R (psycho-éducative profile, revised)	6 mois-7 ans
Échelles d'adaptation	VABS (Vineland adaptive behavior scales)	Naissance-18 ans 11/12
Tests comportementaux	CBCL (Child behavioural check list)	2 ans-16 ans
	ADI-R (Autism diagnostic interview-revised)	2 ans-adulte
	Conners (plusieurs versions : parent, enfant, enseignant)	3 ans-17 ans

Tabella 9: Principali test psicometrici utilizzati per la valutazione dei disordini del neurosviluppo (Verloes et al 2013)

B) Secondo livello diagnostico, l'individuazione della eziopatogenesi, ci consente di formulare una migliore prognosi, di iniziare un trattamento specifico, se possibile, e di poter fornire un adeguato consiglio genetico alla famiglia.

Questo secondo percorso richiederà molto più tempo, talvolta anche anni, con il reale rischio di non arrivare mai ad una definizione eziopatogenetica, fatto che si verifica in circa la metà dei casi, sia perché ancora non si conoscono tutti i fattori causali dei disordini del neurosviluppo e sia per obiettive difficoltà cliniche e procedurali.

Per ogni professionista, infatti, è impensabile poter conoscere tutte le sindromi: molte sindromi condividono gli stessi dismorfismi, per la maggior parte delle sindromi non esiste un tratto dismorfico patognomonico come per esempio l'iride stellato della Sindrome di Williams o l'eversione della palpebra inferiore della Sindrome di Kabuki. Per molte sindromi inoltre l'espressione fenotipica può variare sulla base dello specifico genotipo, dell'età e del genere, per molte sindromi, definite clinicamente, non si hanno a disposizione *markers* genetici e biologici che potrebbero supportare l'ipotesi clinica. Infine molti quadri, pur essendo sindromici, possono essere inquadrati solo nel grande capitolo delle "Anomalie Congenite Multiple/Ritardo Mentale, MCA/MR" o, secondo la più recente definizione, le "sindrome senza nome- *syndromes without a name*, SWAN".

Il percorso diagnostico richiede molto tempo, il lavoro di molti professionisti, l'investimento di risorse economiche e, non ultimo, richiede la fattiva collaborazione del paziente e della sua famiglia che dovranno imparare a convivere con le lunghe attese dei risultati, con il carico emotivo che la

diagnosi di per sé comporta, con la consapevolezza che la diagnosi non sarà sempre raggiunta e che non sempre potrà fare accedere ad una specifica terapia.

La valutazione clinica, secondo protocolli ormai condivisi, si avvale delle seguenti indagini:

- Anamnesi personale e familiare con costruzione dell'albero familiare
- Esame clinico generale
- Esame dismorfologico
- Esame neurologico
- Bilancio sensoriale
- Esami di laboratorio con particolare riferimento agli esami utili allo studio degli errori congeniti del metabolismo
- Esami strumentali: EEG con registrazione di veglia e di sonno, Potenziali Evocati, VCM e VCS, EMG, Neuroimmagini, ECG, ECO cardiografia, Ecografia addominale, RX ed ogni altro esame utile per valutare la morfologia e la funzione degli organi.
- Esami genetici: Cariotipo, citogenetica molecolare (FISH, MLPA), CGH array, indagine molecolare FMR1, sequenziamento esonico.

Le *reviews* suggeriscono che l'analisi del cariotipo identifica le sottostanti anomalie nel 3-5% dei bambini con DI (Stankiewicz and Baudet, 2007), la combinazione del cariotipo con esame FISH selezionato, che includono anche la FISH telomerica, aumenta il livello diagnostico all'8-10%. Con gli arrays si scoprono le anomalie in circa il 15-20% dei bambini con la DI di grado grave (Miller et al, 2010), soprattutto quando è associata a dismorfismi, malformazioni cerebrali o epilessia.

Segue l'algoritmo diagnostico per la valutazione dei pazienti.

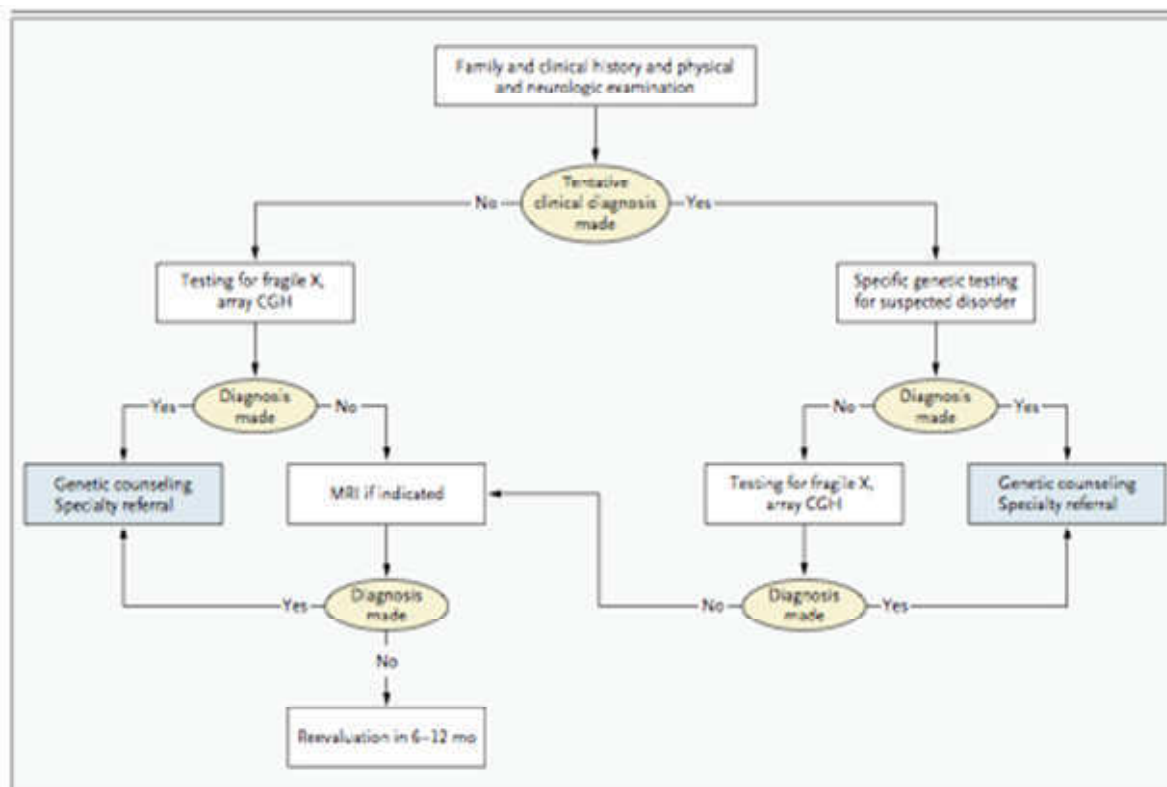


Figura 6: Algoritmo diagnostico per la valutazione dei pazienti con DI ad etiopatogenesi non nota (Mefford et al, 2012). L'uso dell'Array-CGH, per valutare la presenza di CNV, può essere utilizzato come primo step diagnostico, insieme all'indagine molecolare per la Sindrome dell'X Fragile. La RMN encefalo dovrebbe invece essere riservata a casi particolari come ad esempio: macro o microcefalia, esame neurologico alterato, epilessia farmaco-resistente o con crisi focali, movimenti anomali quali distonia, corea o segni extrapiramidali, dismorfismi facciali evidenti associati a anomalie di sviluppo, progressione dei sintomi neurologici o decadimento cognitivo-comportamentale.

6.1. Gli esami genetici: microarray cromosomici

I genetisti clinici, i pediatri, i neuropsichiatri richiedono più frequentemente lo studio del microarray cromosomico (*chromosomal microarray*, CMA) per poter raggiungere la diagnosi genetica dei pazienti affetti da forme inspiegabili di DSA e/o DI.

Le linee guida relative allo studio di queste patologie hanno precedentemente enfatizzato l'esecuzione del cariotipo a bandeggio e l'analisi molecolare del gene *FMRI*, essendo alterazioni a carico di questo gene la causa monogenica più frequente.

Più recentemente le tecnologie di microarray si sono dimostrate molto più efficaci, rispetto al cariotipo, nell'evidenziare delezioni e duplicazioni più grandi di 1 kb, e sono ampiamente usate per

identificare le CNVs nei pazienti affetti da DSA e/o DI, tanto usate da essere ormai considerate, nei protocolli diagnostici, il primo esame, prima ancora del Cariotipo a bandeggio, in accordo con le molteplici indicazioni provenienti dalle linee guida dell'American College Medical genetics , ACMG, (Manning M and Hudgins L, 2010) e dalla vasta letteratura in proposito (Miller DT et Al, 2010; Shevell et al, 2008; Battaglia A et al, 2013; Vincent J et al, 2010, Shoukier M et al, 2013).

Le linee guida dell'*American College Medical Genetic* ACMG raccomandano:

A) CMA per lo studio dei CNV è raccomandato come il primo test nella valutazione iniziale postnatale delle persone con:

- 1) Anomalie multiple non specifiche di una sindrome genetica nota
- 2) Ritardo di sviluppo/DI apparentemente non sindromica
- 3) DSA

B) CMA è raccomandato per la valutazione del bambino con ritardo di crescita, ritardo di sviluppo, e altre indicazioni meno studiate, in particolare per studi prospettici

C) In caso di sbilanciamento cromosomico trovato con CMA è raccomandato un appropriato *follow up* che includa lo studio citogenetico/FISH del paziente, la valutazione genitoriale, la valutazione clinico-genetica e il *counseling*.

Shoukiers et al. (2012) suggerisce inoltre che il cariotipo a bandeggio dovrebbe essere riservato ai pazienti con sindromi cromosomiche ovvie (es: sindrome di Down), una storia familiare di riarrangiamenti cromosomici o una storia di aborti multipli; in tutti gli altri casi raccomanda il CMA come primo test diagnostico.

Beaudet (2013), rafforza la raccomandazione sostenendo che quasi tutti i bambini affetti da DI dovrebbero essere studiati con il CMA, dato che, anche in presenza di prematurità o ipossia perinatale, ci sia la possibilità che una sottostante anomalia genetica predisponga ad una eziologia apparentemente non genetica. In questo modo verrebbe anche aperta la strada ad un corretto *counseling* genetico.

Tutti gli studi concordano sull'alto potere diagnostico del CMA quando eseguito nei pazienti affetti da Ritardo di sviluppo, Disabilità intellettiva, Disordine dello spettro autistico, ad eziologia sconosciuta, permettendo quindi di incrementare le diagnosi eziologiche. Battaglia et al, (2013) riportano il raggiungimento della diagnosi genetica nel 22% di 349 pazienti affetti da DI/DSA;

Shoukier M et al, (2102) nel 13,2% di 342 pazienti affetti da DI; Vincent J et al, (2010) nel 13% di 160 pazienti affetti da DI e anomalie congenite multiple.

Miller et al nel 2010 pubblicano un *Consensus Statement* sul CMA utilizzato come test diagnostico dei disordini dello sviluppo o di anomalie congenite. Dalla revisione della letteratura condotta su 33 studi deducono che la resa diagnostica del CMA è del 15-20%, quindi molto più alta rispetto al 3% del cariotipo a bandeggio (esclusa la sindrome di Down).

Le differenze dei risultati, riscontrate fra i vari studi, possono in parte essere spiegate dalle diverse piattaforme usate ma anche dalla selezione dei pazienti.

In relazione a quest'ultimo parametro ci sembra importante riportare due studi.

Lo studio di Shoukier et al, 2012 indica quali fattori importanti nel determinare i risultati più rilevanti, le caratteristiche della coorte di pazienti in studio ovvero la presenza o meno di cardiopatia, l'aver già escluso un'ampia proporzione di cause di DI, la microcefalia primaria, la bassa statura e il basso peso.

Baudet (2013) sottolinea che il fenotipo gioca un ruolo importante nel determinare la percentuale di individuazione dell'anomalia causale, infatti è più facile individuare la causa genetica nelle forme di DI più gravi e/o associate ad anomalie multiple ed epilessia; il tasso di rilevazione del 20-25% è infatti riferito soprattutto alle coorti di pazienti con DI di grado grave/moderato.

Sottolinea anche che solo più recentemente lo studio CMA viene fatto in larghe casistiche di pazienti con DI di grado lieve, DSA di grado lieve ed altre patologie quali epilessia e ADHD. La frequenza di anomalie causali fra questi pazienti è significativa ma certamente più bassa rispetto ai pazienti affetti da fenotipi più gravi.

I risultati che si ottengono possono essere sommariamente suddivisi in tre gruppi:

- CNVs corrispondenti a sindromi da microdelezione e sindromi da microduplicazione già note;
- Traslocazioni sbilanciate;
- CNVs di patogenicità incerta (sconosciute e non pubblicate; ereditate da un genitore sano).

La metodica non mette in evidenza i riarrangiamenti bilanciati e i mosaicismi di livello basso.

Ogni CNVs ritrovata deve essere confermata mediante esame FISH o PCR e di ciascuna va stabilito se sia *de novo* o ereditata. In quest'ultimo caso, soprattutto quando il CNV non è stato ancora

descritto in letteratura, va studiato il genitore per verificare se possa essere affetto dalla stessa patologia del figlio, seppur in grado più lieve.

Verificare lo stato di salute del genitore è importante perché a volte l'interpretazione dei risultati è difficile soprattutto quando si ritrovano "nuove CNVs".

In persone normali, infatti, sono frequentemente identificati CNVs, fatto che rende difficile la distinzione fra CNVs "causa della malattia" o CNVs "benigne".

Gli studi di popolazione suggeriscono che più del 99% di tutte le CNVs benigne sono ereditate e che la grande maggioranza delle ereditate sono più piccole di 500kb. (Mc Carroll SA, et al 2008).

La grande maggioranza delle CNVs patogene sono più grandi di 1 Mb e sono *de novo*.

Ma esistono anche diverse CNVs ereditate come la 1q21.1 (OMIM 612474), 3q29 (OMIM 609425; 15q 13.2q13.3 (OMIM 612001) per citarne solo alcune che possono essere patogene presentando penetranza incompleta e espressività variabile.

La segregazione genitoriale rende l'interpretazione del risultato molto incerta. Infatti anche in presenza di un genitore sano (sempre che non presenti sfumatissimi segni non evidenziati dal clinico che lo visita) non si può escludere la patogenicità dello stesso CNV nel figlio sia per diversa penetranza o espressività sia per fattori epigenetici e sia per mutazioni recessive e non scoperte nell'allele non deletato (Battaglia A et al, 2013).

Molti sbilanciamenti cromosomici di non chiaro significato possono rappresentare sindromi emergenti quindi, sottolineano Shoukiers et al (2013), è importante segnalare ogni CNV ritrovata con il corrispondente fenotipo. D'altronde proprio l'array CGH ha aperto la strada delle dismorfologia inversa, approccio secondo il quale la scoperta della stessa aberrazione cromosomica precede la definizione della stessa presentazione clinica.

L'uso del CGH-array ha avuto una così ampia diffusione non solo per i risultati così confortanti ma anche per il fatto che non è necessario sospettare una diagnosi prima di effettuare l'analisi, con risparmio da parte dei professionisti di lavoro intellettuale e risparmio economico per i sistemi sanitari, eliminando numerosi esami laboratoristici e strumentali che saranno eseguiti in modo mirato solo successivamente al risultato. Questo se il CGH evidenzierà un microriarrangiamento noto; in caso contrario si seguirà la procedura per la diagnosi sindromica.

In sintesi possiamo dire che la diagnosi di DSA e/o di RPM e DI, primo *step* del percorso, è raggiungibile dalla quasi totalità dei pazienti affetti mentre la diagnosi etiopatogenetica, secondo *step*, è irta di ostacoli ed è raggiungibile dalla metà circa dei pazienti.

I problemi, in relazione alla definizione della diagnosi genetica, sono quelli relativi a tutte le malattie rare: la difficoltà di accesso alla diagnosi in tempi brevi, l'esiguo numero di strutture sanitarie e di operatori formati sul territorio nazionale, i ricoveri inutili e ripetuti, la scarsa disponibilità di percorsi assistenziali, le scarse terapie disponibili, la difficoltà di accesso alle strutture riabilitative competenti, la qualità di vita compromessa, il vissuto di isolamento sociale.

6.2. Gli esami genetici di nuova generazione

I recenti progressi tecnologici, in particolare le piattaforme di sequenziamento di nuova generazione (NGS), hanno reso possibile sequenziare per esteso il DNA umano. Mentre il sequenziamento dell'intero genoma ad alta copertura rimane ancora economicamente complicato per la maggior parte delle applicazioni, il sequenziamento dell'esoma o exome sequencing, ovvero delle regioni codificanti del genoma, rappresenta un'opzione più conveniente, almeno per una prima ricerca delle mutazioni causali. Infatti, la maggior parte delle varianti geniche causali di malattie monogeniche, come mutazioni missenso, nonsense, sostituzioni che interessano il sito di splicing o la presenza di piccole indels, hanno gravi conseguenze funzionali e sono svelate attraverso le moderne strategie di cattura e arricchimento delle sequenze di DNA da sottoporre a tale metodica. Pertanto l'esoma rappresenta un sottoinsieme del genoma altamente arricchito in cui cercare varianti rare causa di malattie mendeliane. L'utilizzo di questo approccio ha recentemente permesso l'identificazione di difetti genetici attraverso l'analisi di un numero limitato di probandi indipendentemente dalla condivisione del patrimonio genetico, e questo sta modificando l'approccio allo studio delle malattie mendeliane, per le quali presto potrebbero essere scoperte tutte le varianti causali, i geni e le loro relazioni con il fenotipo. Un esempio di diagnosi genetica ottenuta attraverso tale metodica è stata attuata per la sindrome di Kabuki: lo studio di molti pazienti affetti dalla sindrome ha consentito l'individuazione del gene *MLL2*, mappato sul cromosoma 2, responsabile qualora mutato, della sindrome..

I vantaggi nel sequenziare l'esoma sono chiari (Bamshad et al., 2011):

- quasi tutte le regioni codificanti possono essere analizzate in un unico esperimento;
- non è necessario limitare l'esplorazione ad una zona predefinita ed è possibile identificare geni che agiscono in vie o processi cellulari inaspettati;

- il numero dei campioni richiesto per uno studio viene drasticamente ridotto (pochi individui fenotipicamente correlati, una sola famiglia, o un solo genitore e figlio).
- le evidenze ottenute sono di più facile interpretazione.

Le problematiche possono essere varie:

- le sonde utilizzate attualmente mappano solamente su regioni esoniche note;
- l'efficienza delle sonde varia considerevolmente e per alcune sequenze esoniche non è stato possibile disegnare delle sonde funzionanti;
- non tutte le regioni vengono sequenziate con la stessa efficienza;
- viene prodotta una grande quantità di dati che richiede una specifica competenza per la gestione;
- non sempre le mutazioni si trovano in regioni esoniche o in sequenze comunque rilevabili con tale approccio.

Il sequenziamento dell'esoma identifica in media 20.000 varianti, un numero che può modificarsi in considerazione di diversi fattori quali differenti metodica utilizzata, ed etnia dei campioni in studio (Altshuler et al., 2010). La sfida maggiore rimane comunque l'interpretazione dei dati. Più del 95% di queste varianti sono polimorfismi noti nelle diverse popolazioni. In questo contesto le strategie per la ricerca degli alleli casuali sono diverse e tengono conto di diversi fattori:

- modalità di ereditarietà del carattere;
- alberi genealogici o struttura della popolazione;
- variante de novo o ereditata;
- estensione dell'eterogeneità del locus.

6.3. Il progetto assistenziale

Come detto precedentemente, sia i DSA che la DI sono malattie croniche, la cui diagnosi etiologica spesso non viene raggiunta e la cui prognosi resta incerta, data l'eziologia sconosciuta.

Anche il progetto assistenziale, così come il percorso diagnostico, sarà effettuato rispettando i due livelli.

Una volta formulata la diagnosi di DSA e/o di DI-RPM il paziente potrà accedere all'assistenza riabilitativa che lo prenderà in carico in maniera globale (piani riabilitativi ed educativi, inserimento scolastico, inserimento in attività sociali, supporti alle famiglie etc).

Diversa sarà invece l'assistenza in relazione alla eziopatogenesi individuata: questa dovrà essere personalizzata in quanto le necessità variano in relazione alla singola sindrome, al singolo paziente data l'ampia variabilità fenotipica, all'età e al genere del paziente.

La quasi totalità delle malattie che causano DSA e DI sono malattie ad esordio precoce, spesso ereditarie, multisistemiche, croniche, a volte progressive, invalidanti. Esse richiedono da un lato specifiche cure mediche costruite con interventi multispecialistici e multidisciplinari, dall'altro la "cura" multidimensionale che prenderà in carico anche gli aspetti emotivo-relazionali e psico-sociali connessi alla patologia.

L'intrinseca complessità di ogni paziente affetto da DI-RPM e/ DSA sindromici richiede una risposta assistenziale che va ben oltre la diagnosi e il follow-up medico, richiede infatti l'ascolto delle esigenze e delle necessità, la strutturazione di progetti longitudinali nel tempo individualizzati per il paziente e per la famiglia. Richiede in particolare che si sposti l'enfasi dalla malattia alla salvaguardia dello sviluppo.

Una buona assistenza fa riferimento a reti assistenziali che condividano protocolli diagnostici e terapeutici basati sulle evidenze scientifiche, i cui operatori abbiano capacità di ascolto basate sulla medicina narrativa.

In sintesi, il paziente godrà di una buona assistenza se all'interno del progetto verrà predisposta un'azione integrata delle strutture sanitarie e sociali, il coinvolgimento del paziente e della sua famiglia, con la condivisione di un obiettivo comune, ovvero quello di permettere al paziente il raggiungimento del maggior grado di autonomia possibile.

Conclusioni dell'introduzione

Sebbene il numero di geni implicati nella DI sia in continuo aumento, allo stato attuale l'eziologia genetica di circa il 60% delle forme resta inspiegata e la maggior parte dei pazienti rimangono senza una diagnosi molecolare. La piena dissezione delle basi genetiche della DI è estremamente rilevante per svariate ragioni che includono:

- 1) formulare una diagnosi precisa e quindi dare ai genitori dei pazienti una spiegazione della grave patologia dei loro figli;
- 2) offrire, attraverso un'adeguata consultazione genetica stime esatte del rischio di ricorrenza consentendo ai genitori dei pazienti di pianificare in maniera informata future strategie riproduttive;
- 3) fornire gli strumenti a livello molecolare per un'eventuale diagnosi prenatale in future gravidanze laddove i genitori volessero liberamente utilizzare questa opzione;
- 4) indicare potenziali bersagli terapeutici utili per lo sviluppo di nuovi farmaci basati sulla piena comprensione dei meccanismi fisiopatologici di ciascuna forma di DI, e creare le premesse per approcci di medicina personalizzata.

A questo scopo sono necessari programmi di ricerca multipli ed integrati che includano la raccolta di un ampio numero di pazienti clinicamente ben caratterizzati e delle loro famiglie per correlazioni genotipo/fenotipo, studi genetici estesi a tutto il genoma, validazione genetica e biologica delle varianti potenzialmente patogenetiche identificate con caratterizzazione funzionale dei prodotti trascrizionali e proteici dei geni candidati. Solo attraverso questa attività di ricerca di base e alla collaborazione tra clinici, biologi e informatici si potrà arrivare al successivo trasferimento in ambito diagnostico e terapeutico delle conoscenze acquisite.

7. SCOPO DELLO STUDIO

L'obiettivo di queste tesi è quello di contribuire alla scoperta di nuove componenti genetiche di DI, in particolare nelle forme sindromiche, sfruttando le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione, quali "l'exome sequencing" o sequenziamento esomico. Questo approccio, che crediamo avrà grandi chance di successo nel delineare le cause genetiche della DI sindromica, contribuirà in maniera rilevante a:

1. effettuare una diagnosi molecolare in un maggior numero di soggetti;
2. implementare una mappa esistente di geni coinvolti nella DI e relative interazioni funzionali;
3. definire nuove sindromi associate a DI utilizzando un approccio dal genotipo al fenotipo;
4. fornire eccellenti opportunità per nuovi interventi terapeutici basati sulla conoscenza dei meccanismi patogenetici coinvolti.

In particolare intendiamo analizzare famiglie di origine sarda in cui la DI associata ad anomalie congenite multiple con quadro clinico definito o meno, ma ad eziologia genetica sconosciuta, sia trasmessa in accordo con un modello di ereditarietà autosomico recessivo.

8. MATERIALI E METODI

Dieci famiglie con queste caratteristiche sono state selezionate nell'Ambulatorio Sindromi e Malattie Rare presso l'Unità Operativa Complessa di Neuropsichiatria Infantile dell'AOU di Sassari e arruolate nello studio. In una di queste, il probando e il fratello sono stati diagnosticati come affetti da sindrome di Filippi (Battaglia et al., 2008) le cui basi genetiche sono a tutt'oggi, mentre nelle restanti famiglie gli affetti presentano sindromi non ancora definite.

Le famiglie sono state selezionate secondo i criteri di individuazione di casi familiari e sulla base di:

- Quadri clinici simili tra fratelli per almeno un aspetto tra fenotipo clinico, cognitivo, comportamentale, tipo di gravidanza, anomalie maggiori.
- Negatività degli esami genetici tra i quali cariotipo, X-FRA, CGH array ed indagini per singolo gene che ovviamente sono diverse a seconda dei casi familiari.
- Buona presa in carico intendendosi un buon rapporto di fiducia medico-paziente-nucleo familiare. Supporto sociale e psicologico al nucleo e assistenza continua non solo ai problemi relativi alle condizioni mediche ma anche interventi personalizzati al bisogno.
- Ricerca di gruppi familiari disponibili ad uno studio di lunga durata che non necessariamente avrebbe portato dei risultati.

Dato che molti bambini hanno subito due o più ricoveri e molti controlli ambulatoriali per ogni paziente si sono stati desunti i dati dalla cartella clinica maggiormente significativa.

Di ogni paziente sono stati presi in considerazione i seguenti dati:

Anamnesi familiare: presenza di consanguineità nella famiglia, familiarità per malattie neurologiche, neuropsicologiche, psichiatriche o di altra natura; eventuali interruzioni di gravidanza /aborti, parti prematuri o decessi per causa non nota nella fratria del probando o nei familiari in linea diretta.

Anamnesi gravidica: movimenti fetali, assunzione di farmaci e/o sostanze esogene, malattie materne, patologie gravidiche, oligo o polidramnios, diabete gestazionale, gestosi. È stato preso in considerazione anche l'età gestazionale al momento del parto, le modalità (spontaneo, indotto e cesareo), le distocie del parto, l'indice APGAR e i parametri alla nascita.

Anamnesi personale:

- Periodo perinatale: eventuale presenza di ittero neonatale, la sua durata e la necessità di intervento fototerapico. Sono stati anche ricercati ulteriori patologie perinatali, quali: idrope fetale, organomegalia, anomalie congenite e convulsioni neonatali.

- Sviluppo psico-motorio: valutazione dell'età in cui sono state acquisite le varie tappe dello sviluppo.
- Alimentazione e accrescimento staturale-ponderale: suzione e deglutizione, tipo di allattamento, epoca del divezzamento e capacità di accettazione dello stesso, dieta attuale.
- Controllo sfinterico e alvo: epoca di acquisizione del controllo sfinterico, regolarità dell'alvo e nella diuresi.
- Ritmo sonno veglia: difficoltà di addormentamento, risvegli precoci notturni, bruxismo, iactatio capitis, pavor nocturnus, incubi e sonnambulismo.
- Anamnesi scolastica: valutazione del percorso scolastico, dall'asilo nido sino alle scuole superiori con descrizione delle capacità di adattamento, socializzazione e profitto.
- Anamnesi comportamentale: descrizione del fenotipo comportamentale da parte dei caregivers.

Anamnesi patologica prossima e remota: indagini clinico strumentali e/o ricoveri passati, quadro clinico attuale.

Esame obiettivo generale

- Esame dismorfologico: valutazione dei parametri auxologici e confronto rispetto ai parametri alla nascita. Descrizione del fenotipo e dei dimorfismi. Misurazione delle varie parti del corpo, secondo quanto previsto dall'esame dismorfologico eseguito secondo le indicazioni di Carey J. et al , "Elements of Morphology: standard terminology" (Am J Med Genet 2009).
- Esame obiettivo neurologico: valutazione di sensorio, partecipazione all'ambiente, comprensione di ordini semplici e complessi, linguaggio, nervi cranici, tono forza e trofismo ai 4 arti, motilità globale e segmentaria e fine, passiva e involontaria, coordinazione, movimenti involontari patologici, riflessi propriocettivi ai 4 arti, riflessi superficiali, sensibilità superficiale e profonda, stazione eretta, deambulazione.

Esami clinici e strumentali eseguiti durante il primo ricovero e per tutta la durata del follow-up.

Valutazioni neuropsicologiche: sono state valutate le scale dello sviluppo psicomotorio (test di Brunet Lezine, Griffiths), scale di valutazione del quoziente intellettivo (scale di Wechsler), scale di valutazione del comportamento adattivo (Vineland).

Valutazioni comportamentali: osservazioni di pranzo e di gioco strutturato, CARS, ADOS.

Tutti i pazienti coinvolti hanno ricevuto la diagnosi di Ritardo dello Sviluppo Psicomotorio (RSPM), Disabilità Intellettiva (DI), Disturbi dello Spettro Autistico (DSA) o altri disordini del neurosviluppo, associati ad Anomalie Congenite Multiple.

Ad ogni paziente è stata posta una singola diagnosi o ne presenta due o più in comorbidità.

Per nessuno dei pazienti coinvolti si è arrivati ad una diagnosi etiopatogenetica definita.

Si è quindi proceduto alla creazione di un database, costruito specificamente per questo studio, all'interno del quale sono stati inseriti i dati anamnestici, clinici, strumentali e di laboratorio. Per ogni paziente tali dati sono stati desunti dalla cartella clinica maggiormente significativa, dato che molti bambini hanno subito due o più ricoveri e molti controlli ambulatoriali.

Dopo aver analizzato tutti i dati a disposizione, sono stati presi in considerazione quelli più salienti, ovvero le cosiddette "maniglie diagnostiche" ai fini di un corretto inquadramento fenotipico. Una volta fatto ciò, le caratteristiche cliniche più evidenti sono state inserite nel database di Phenomizer. Per tutti i soggetti è stato richiesto il consenso informato per l'esecuzione dell'analisi genetica tramite sequenziamento esomico e per il trattamento dei loro dati genetici (vedi Allegato 1). Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Asl di Sassari.

I campioni di sangue periferico, prelevati dai pazienti, dai fratelli e dai loro genitori, sono stati inviati all'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB)-Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)-cittadella Universitaria di Monserrato-Sestu (Cagliari). Responsabili scientifici della ricerca: Dr. ssa Laura Crisponi, Ricercatrice IRGB-CNR e Prof. Francesco Cucca, Direttore IRGB-CNR .

Caratteristiche del sequenziamento:

Dopo anni in cui il Sanger sequencing ha rappresentato il gold standard della diagnostica genetica molecolare mondiale, le tecniche di nuova generazione (Next Generation Sequencing - NGS, detta anche second generation sequencing) hanno preso il sopravvento. La NGS è anche chiamata high-throughput sequencing (sequenziamento ad alta resa) perchè, a differenza del sequenziamento tradizionale col metodo Sanger, consente di sequenziare moltissimi frammenti in parallelo. Diverse compagnie propongono sequenziatori e sistemi NGS, ognuno con caratteristiche specifiche, offrendo agli utilizzatori diverse possibilità di scelta in base alle esigenze sperimentali. Tutti questi sistemi, tuttavia, condividono almeno tre passi fondamentali: la preparazione e immobilizzazione del DNA (cioè la preparazione della cosiddetta sequencing library), la reazione di amplificazione e la reazione di sequenziamento.

Sono tre attualmente i protocolli più utilizzati per il sequenziamento esomico: Human SureSelect Agilent All exome 50 Mb, Roche/NimbleGen 's SeqCap EZ Exome Library v2.0 e Illumina TruSeq Exome enrichment. Queste tecnologie si differenziano per la loro scelta nel target, lunghezza e disegno delle sonde, e molecole utilizzate per la cattura delle regioni bersaglio (RNA per Agilent e DNA per NimbleGen e Illumina). La nostra scelta è ricaduta sul kit TruSeq exome Enrichment Kit (Illumina), in quanto questo fornisce la copertura esomica più completa e richiede le minori quantità di DNA. In particolare offre una copertura di 62 Mb di sequenza esomica, tra cui 5'UTR, 3' UTR, microRNA, e altre regioni non codificanti.

Sono quindi stati sottoposti a sequenziamento esomico tutti i figli affetti di tutte e 9 le famiglie, ad eccezione di 2 famiglie, per le quali sono stati sequenziati anche i genitori.

La pipeline di sequenziamento ha richiesto i seguenti tempi:

- il processo di preparazione delle librerie circa 4 giorni di lavoro per processare 24 campioni.
- il protocollo per l'arricchimento esomico circa 7 giorni di lavoro per elaborare 24 campioni.
- il sequenziamento delle librerie circa 11 giorni per analizzare 24 campioni in una cella a flusso singolo.

La successiva pipeline di analisi dei dati è schematizzabile in due steps principali ed è stata condotta in collaborazione col gruppo di bioinformatica del CRS4 oltre che dell'IRGB-CNR:

- Processing: (allineamento, rimozione dei duplicati, riallineamento e ricalibrazione);
- Ricerca delle varianti: (identificazione, annotazione, filtraggio e analisi).

L'allineamento è stato eseguito attraverso il software BWA-MEM sul genoma di riferimento hg19, attraverso il MarkDuplicates del toolkit Picard sono stati marcati i duplicati. Due tool del GATK2 toolkit (Realigner Target Creator e Indel Realigner) ci hanno permesso di determinare e riallineare localmente le nostre read, la cui qualità viene a questo punto ricalibrata attraverso altri due algoritmi della GATK2 toolkit (Base Recalibrator, Print Read). Unified Genotyper, Il variant caller del GATK2 toolkit, è stato usato per effettuare la chiamata delle varianti che successivamente attraverso KGGSeq sono state filtrate e priorizzate. Le statistiche sulle read allineate, tra cui la percentuale di read allineate, le read duplicate, percentuale e uniformità del coverage, sono state ottenute con i software SAMtools flagstat e PICARD HybridSelection.

Per la ricerca delle varianti sono stati seguiti due filoni di ricerca: il primo ha riguardato le varianti di tipo qualitativo, SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) e INDELS (Insertions/Deletions), il secondo le varianti di tipo quantitativo, CNVs (Copy Number Variations).

Al fine di ricercare le varianti qualitative (SNPs e INDELS) è stata appositamente studiata una pipeline creata su ORIONE, la piattaforma GALAXY del CRS4, a partire dalle linee guida proposte da GATK.

In una prima fase sono stati applicati dei parametri stringenti: MAF (frequenza allelica minima $< 0,01$ in 1KGenome 2013-05, dbSNP_v138, ESP6500, progetto Genomi Sardi), tipologia di variante (InDel, aggiunta/rimozione di un codone di stop, missenso, splicing con un intorno di 2 bp), ereditarietà (varianti recessive – in omozigosi e composti eterozigoti – e trasmissioni *de-novo*); sono state inoltre marcate quelle varianti ritrovate in bibliografia come falsi positivi.

Si è così arrivati, partendo da una media di varianti grezze per famiglia pari a 167102, a una media di 106 varianti per famiglia, delle quali sono state ritenute potenzialmente correlate alla DI solo quelle presenti in tutti gli affetti della famiglia e assenti contemporaneamente negli individui sani. Le 51 varianti (media tra le famiglie) sono poi state poi studiate nel dettaglio analizzando i pathways dei geni coinvolti, le informazioni presenti in bibliografia e nelle banche dati; sono state in questo modo identificate 4 varianti potenziali ripartite in 3 delle famiglie prese in esame, dato concordante con gli ultimi studi del campo dai quali si evince un tasso di successo dell'analisi esomica del 25-30%.

Per quelle famiglie in cui non sono state riscontrate varianti d'interesse, sono stati rilassati i criteri di filtraggio per includere anche le varianti con un MAF fino a 0,05, presenti negli UTR, distanti dal sito canonico di splicing per un intorno di 13 bp, e varianti sinonime potenzialmente patogene sulla base delle annotazioni predette dal software SILVA; è stato inoltre valutato il potenziale impatto delle varianti posizionate nel 3' UTR sui siti di legame di microRNA e sul segnale di poliadenilazione. Al fine di predire mutazioni potenzialmente patogene in queste regioni, che presentano una variabilità maggiore, e che richiedono dunque un approccio integrato, le varianti sono state ulteriormente filtrate per IBD (identical by descent) con il tool IBD2. Questa fase di annotazione estesa è ancora in corso.

Al fine di ricercare le varianti qualitative (Copy Number Variations o CNV), è stata eseguita un'attenta indagine bibliografica e sono state individuate diverse metodiche computazionali specifiche per l'analisi delle CNV, sono stati valutati e confrontati sperimentalmente i principali algoritmi e si è deciso infine di portare avanti l'analisi delle CNV focalizzandosi sull'utilizzo del software CoNIFER attraverso cui sono state delineate alcune CNV potenzialmente correlabili alla DI.

L'analisi ha permesso di identificare CNVs di taglia variabile, da quelle minori di 10Kb a quelle superiori a 1Mb, che in totale hanno interessato 59 geni ripartiti in 6 famiglie su 9 e che sono attualmente in fase di studio.

Il passo successivo per le 4 varianti potenzialmente patogene identificate in 3 delle famiglie prese in esame, è stato la loro validazione genetica tramite sequenziamento tradizionale Sanger e co-segregazione con la malattia all'interno della famiglia. In particolare nella famiglia con due figli affetti da sindrome di Filippi, è stata identificata una mutazione nel gene *CKAP2L*, in omozigosi nei figli affetti e in eterozigosi in entrambi i genitori. Questo gene è stato successivamente trovato mutato in altri pazienti non correlati geneticamente ma con lo stesso fenotipo clinico, permettendo così di confermarne il ruolo nella patogenesi della sindrome.

In seguito alla validazione genetica, le varianti più promettenti saranno studiate *in vivo* e *in vitro* per chiarirne il ruolo e l'effetto funzionale. Un'analisi primaria dettagliata dei network in cui agiscono i geni candidati faciliterà il chiarimento del loro ruolo putativo nella patogenesi della DI sindromica. Sarà possibile evidenziare nuove interazioni proteiche e quindi identificare nuove vie o ampliare quelle già conosciute. Finora complesse correlazioni funzionali più o meno complesse sono state identificate tra proteine codificate da vari geni implicati nella DI. Da notare che queste correlazioni convergono in comuni percorsi molecolari e cellulari, pertanto si può ipotizzare che l'alterazione di un qualunque componente della stessa rete molecolare avrebbe un effetto simile sul fenotipo (Van Bokhoven, 2011). L'approccio e la tecnologia ottimali da utilizzare per la validazione biologica delle varianti coinvolte saranno stabiliti una volta identificati i geni candidati, tenendo conto della natura predetta dei loro prodotti proteici e/o trascrizionali e delle loro possibili interazioni con i prodotti di altri geni. Al momento, in assenza di tali informazioni possiamo pianificare approcci standard, quali ad esempio l'analisi del pattern di espressione temporale e tissutale sia umano che murino, saggi di mutagenesi/luciferasi, analisi fenotipica di appropriati modelli animali o lo sviluppo di saggi cellulari.

9. RISULTATI

Per tutte le famiglie candidate allo studio e sottoposte a valutazione clinica e a indagine Next Generation Sequencing vengono di seguito riportati:

- la familiarità per patologie afferenti ai Disordini del Neurosviluppo o altre patologie,
- la storia clinica del paziente,
- gli esami clinico-strumentali più rilevanti,
- le indagini genetiche precedentemente eseguite.

Si rimanda all'Appendice 3 per le schede Phenomizer relative ai dismorfismi ed alle anomalie congenite presentate dal probando. Nelle tabelle A e B riportate in Appendice 2 vengono descritte in sintesi le notizie anamnestiche e le indagini clinico-strumentali eseguite.

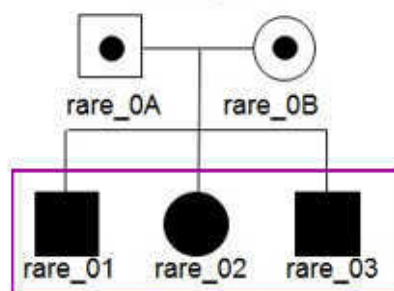
La descrizione prevede una prima parte relativa alla valutazione ed ai risultati clinici ed una seconda parte in cui verranno esposti i risultati ottenuti dall'indagine genetica.

Nove famiglie sono costituite da uno o più figli affetti da DI e/o DSA associati ad anomalie congenite multiple, la cui definizione sindromica e etiopatogenetica era sconosciuta al momento dello studio. Una, invece, è composta da due figli con segni e sintomi suggestivi per Sindrome di Filippi, la cui causa etiopatogenetica era ancora sconosciuta al momento dell'inizio dello studio.

[L1]

9.1. I risultati clinici

Famiglia 1.



E' composta da genitori non consanguinei e tre figli (in rosso evidenziati i soggetti sequenziati).

La madre ha presentato ritardo del linguaggio. In linea materna si segnala familiarità per Disabilità Intellettiva non meglio precisata né quantificata. In linea paterna viene segnalato in anamnesi un caso di patologia epilettica, non meglio precisata (una cugina di primo grado dei tre probandi) e un caso (un altro cugino di I grado) di ritardo mentale, epilessia e sindrome polimalformativa, anche questa non meglio precisata in sede di raccolta anamnestica e dall'analisi dei database informatici in nostro possesso.

I tre figli sono seguiti tutti nell' ambulatorio di Sindromi e Malattie Rare dell'UOC per Ritardo Mentale e Disturbo Autistico di vario livello e anomalie congenite multiple. Pertanto sono stati considerati tutti e tre probandi ed inclusi nello studio.

Il primogenito (Rare_01) è affetto da “*Disabilità Intellettiva Lieve, Autismo e Anomalie Congenite multiple*”. La gravidanza è decorsa fisiologicamente con un parto a termine, spontaneo eutocico. Non ha presentato sofferenza perinatale (APGAR al 1':9). In seconda giornata di vita ha presentato sepsi neonatale, trattata con terapia antibiotica. All'età di 3 mesi veniva riscontrata una displasia congenita dell'anca. I parametri auxologici alla nascita si collocavano al di sopra del 25°P per il peso, al 75°P per lunghezza e al 25°P per circonferenza cranica. Successivamente l'accrescimento staturponderale risultava lento e stentato fino ai 7 mesi di vita, per poi andare incontro a normalizzazione. Al momento dell'inserimento nello studio i parametri auxologici erano i seguenti: peso inferiore al 50°P, altezza e circonferenza cranica superiori al 50°P. Ha acquisito le tappe dello sviluppo motorio in epoca regolare, mentre nel linguaggio ha presentato un ritardo nell'emergenza e nell'evoluzione, fino a configurarsi un quadro di “*Disturbo misto del linguaggio*”. Con la scolarizzazione si rendevano tuttavia evidenti anche altre problematiche, sia sul piano relazionale, che sul versante comunicazionale, oltre ad essere presenti interessi ristretti e comportamenti

bizzarri. Si poneva pertanto diagnosi di “*Disturbo dello Spettro Autistico*” (Disturbo Pervasivo dello Sviluppo Non Altrimenti Specificato nella vecchia dizione).

Le indagini clinico strumentali hanno evidenziato le seguenti anomalie: alterazioni EEG sulle regioni fronto-centrali dei due emisferi più evidenti a dx (normalizzatesi nei successivi controlli EEG), riscontro ortopedico di scoliosi con caduta dell'emibacino di destra, all'ECG blocco incompleto di branca dx con ripolarizzazione normale ed ecocardio nella norma. La RMN encefalo, l'ABR, l'ecografia addominale, le consulenze endocrinologiche e ORL non mettevano in evidenza dati patologici di rilievo. L'esame neurologico non evidenziava segni patologici degni di nota.

Sono state condotte le seguenti indagini genetico-molecolari, risultate tutte negative: cariotipo standard, indagine molecolare dei geni *FMRI* e *MECP2*, FISH delle regioni subtelomeriche e Array-CGH. La FISH del cromosoma 15 (regione P.W.) evidenziava il polimorfismo 46XY,ish (15)(SNRPNx2), ereditato dal padre.

La secondogenita (Rare_02) è affetta da “*Disabilità Intellettiva Lieve, Disturbo Autistico e Anomalie Congenite Multiple*”

La gravidanza è decorsa fisiologicamente con parto alla 40^a settimana, spontaneo eutocico. Non ha presentato sofferenza pre-perinatale (APGAR al 1':9). I parametri auxologici alla nascita si collocavano al 50°P per peso e altezza, inferiore al 25°P la circonferenza cranica. Al momento dell'inserimento nello studio i parametri auxologici erano i seguenti: peso al 50°P, altezza al 25°P, circonferenza cranica al 50°P. Il suo sviluppo motorio è stato regolare, con acquisizione delle tappe in epoca per età. Il linguaggio si è invece caratterizzato anche in lei per un ritardo nell'emergenza e nell'evoluzione. A 2 anni e 11 mesi veniva posto dai genitori il dubbio di una probabile regressione delle competenze linguistiche acquisite, oltre a rendersi evidenti difficoltà relazionali coi coetanei e tendenza all'isolamento. Tali problematiche comportamentali si risolvevano in parte con l'ingresso alle Scuole Elementari, ma persistevano difficoltà nella sfera della relazione e della comunicazione, tali per cui veniva posta diagnosi di Disturbo dello Spettro Autistico (Disturbo Pervasivo dello Sviluppo Non Altrimenti Specificato nella vecchia dizione).

Tutte le consulenze eseguite in ambito cardiologico, endocrinologico, elettroencefalografico, ecografico (ETG addome e cuore), radiologico (RX per età ossea, RX cranio, RX colonna e bacino sotto carico) sono risultavano nella norma. Alla RMN encefalo si segnalava una condizione di megacisterna magna. I potenziali evocati visivi da stimolo Flash evidenziavano una asimmetria di latenza della P100, lievemente superiore a sinistra. Come unici dati patologici all'esame

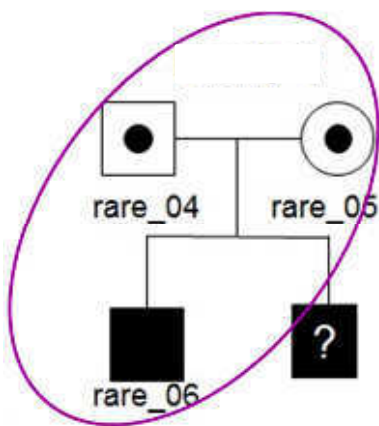
neurologico si segnalano: strabismo convergente in occhio sinistro, lieve impaccio motorio, ipotonia generalizzata di grado lieve.

Sono state condotte le seguenti indagini genético-molecolari risultate negative: cariotipo standard, indagine molecolare dei geni *FMRI* e *MECP2*, FISH delle regioni subtelomeriche e del cr. 15 (regione P.W.), Array-CGH.

Il terzogenito (Rare_03) presenta “*Disabilità Intellettiva Lieve, Autismo e Anomalie Congenite multiple*”. E’ nato da gravidanza normodecorsa e terminata alla 40[^] sett. con parto spontaneo eutocico. Non ha presentato sofferenza pre-perinatale (APGAR al 1’:9). Riscontro alla nascita di displasia dell’anca e ernia inguinale. I parametri auxologici alla nascita erano: peso al 90°P, lunghezza al 75°P, circonferenza cranica al 50°P. Successivamente l’accrescimento staturponderale si collocava nei limiti della norma, con parametri tutti intorno al 50°P. Per quanto riguarda lo sviluppo psicomotorio (SPM), il bambino ha presentato maggiori difficoltà e lentezza nelle acquisizioni sia delle tappe motorie che di quelle relative al linguaggio. Le difficoltà in ambito comunicazionale e relazionale, gli interessi ristretti e ripetitivi, la presenza di difficoltà emotivo-relazionali portavano alla diagnosi di “*Disturbo dello Spettro Autistico*”. Gli esami clinico-strumentali di tipo cardiologico, ortopedico, radiografico, ecografico ed elettroencefalografico risultavano nella norma. Unico dato da segnalare: lieve ipermetropia. L’esame neurologico risultava complessivamente in ordine. Le indagini genético-molecolari eseguite (cariotipo standard, indagine molecolare del gene *FMRI* e *MECP2* e Array-CGH) sono risultate tutte negative.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 2



E' composta da genitori non consanguinei e due figli. I genitori e il primo figlio sono stati sottoposti a sequenziamento, pertanto evidenziati in rosso. Il primogenito è il probando da cui è partito lo studio.

Il primogenito (Rare_06) è seguito presso l'Ambulatorio Sindromi e Malattie Rare per "*Ritardo Mentale Profondo, Sindrome Comiziale e anomalie congenite multiple*". Sulla base delle anomalie congenite e dei dismorfismi riscontrati si poneva diagnosi clinica di "*Sindrome di Filippi*". Durante la gravidanza veniva riscontrato un deficit di crescita intrauterino (IUGR) e programmato taglio cesareo alla 34^a settimana. Non ha presentato sofferenza pre-perinatale (APGAR al 1':9). Tuttavia l'ipotonia generalizzata e le difficoltà nella suzione e deglutizione, rendevano necessaria l'alimentazione tramite sondino nasogastrico. I parametri auxologici alla nascita erano i seguenti: peso 1,205 kg (-2DS), lunghezza 38 cm (-2 DS), CC 26 cm (-3,3 DS). Ha quindi presentato un grave ritardo di crescita staturale-ponderale e allo stato attuale i parametri auxologici sono tutti notevolmente al di sotto del 3°P. Il bambino ha presentato un ritardo nello sviluppo motorio (controllo del capo a 4 mesi, controllo del tronco a 14 mesi). Il linguaggio è da sempre caratterizzato da suoni gutturali come unica espressione di piacere o dolore. Non pronuncia alcun vocabolo intellegibile. Ospedalizzato per la prima volta all'età di 18 mesi per crisi tonico-cloniche in presenza di iperpiressia, veniva sottoposto ad EEG e RMN encefalo. Il primo metteva in evidenza un'attività di fondo lenta, più evidente nelle sedi posteriori. Tuttora assume terapia specifica anticomiziale. L'indagine neuroradiologica mostrava un aumento degli spazi subaracnoidei della convessità frontali, delle fessure interemisferiche e dei lobi temporali bilateralmente, oltre ad un diffuso aumento dei ventricoli laterali e megacisterna magna. Venivano inoltre riscontrati, oltre a dismorfismi caratteristici per cui si rimanda alla scheda Phenomizer in Appendice 1, criptorchidismo, microcefalia, ritardo di crescita con ritardo dell'età ossea rispetto all'età cronologica. Le valutazioni cardiologiche, radiologiche ed ecografiche risultavano nella norma. Dal punto di vista neurologico il paziente presenta ipotonia al tronco di grado moderato-grave, tetraplegia spastico-distonica e movimenti stereotipati. Controlla il tronco in cifosi dorsale. Non è in grado di deambulare in autonomia, ma solo con sostegno bilaterale. Le indagini genetiche eseguite sono risultate tutte negative: cariotipo standard, FISH delle regioni subtelomeriche, FISH della regione Wolf-Hirshhorn (4p16), studio per la craniostenosi geni TWIST e FGFR2 e FGFR3, studio per la famiglia di geni HOX e array-CGH.

Il fratello minore ha presentato anche lui un a condizione di IUGR riscontrato all'8^a mese. Nato da parto cesareo d'elezione alla 38^a sett, ha presentato uno sviluppo psicomotorio regolare e le

valutazioni psicometriche effettuate su di lui hanno confermato un QI nei limiti della norma. Presenta gli stessi dismorfismi del fratello ovvero: sopracciglia arcuate e sparse, epicanto, palpebre succulente, ponte nasale prominente, filtro naso—labiale profondo, denti piccoli e diastemati, retrognazia, orecchie piccole, teletelia, sindattilia cutanea bilaterale tra 3[^] e 4[^] dito delle mani e tra 2[^], 3[^] e 4[^] dito dei piedi. Presenta inoltre alcune discromie cutanee. I suoi parametri auxologici mostrano un ipoevolutismo somatico essendo tutti <<3°P.

Di seguito vengono riportate le foto del paziente e del fratello. I genitori hanno prestato e firmato il loro consenso informato all'utilizzo e pubblicazione delle foto.



Figura 7: Presentazione clinica di Rare_06. Si notino le caratteristiche del viso e la sindattilia cutanea bilaterale tra 3[^] e 4[^] dito delle mani, maggiore a destra, e tra 2[^], 3[^] e 4[^] dito dei piedi bilateralmente.

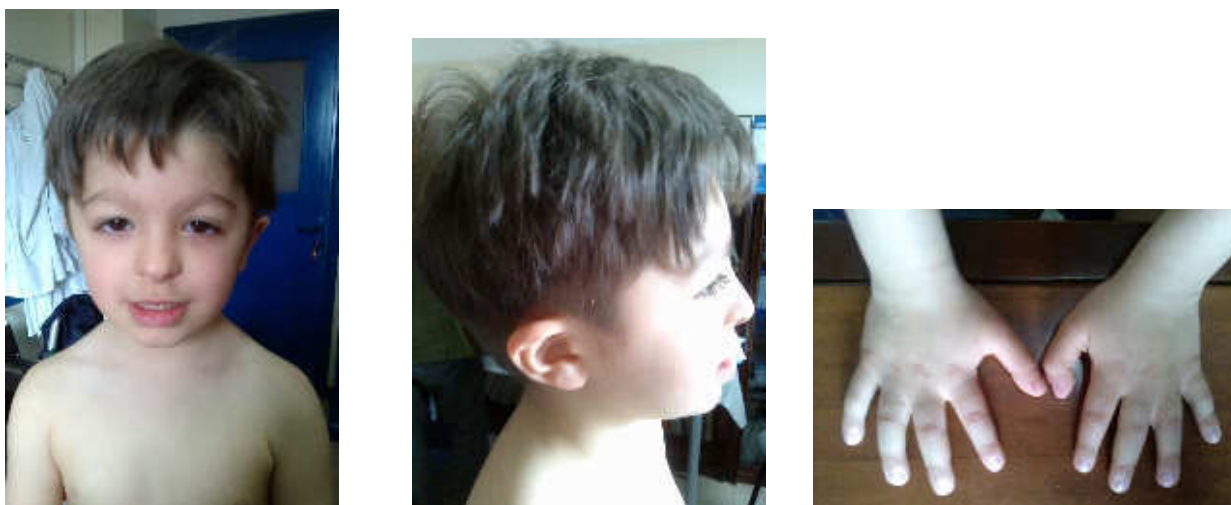
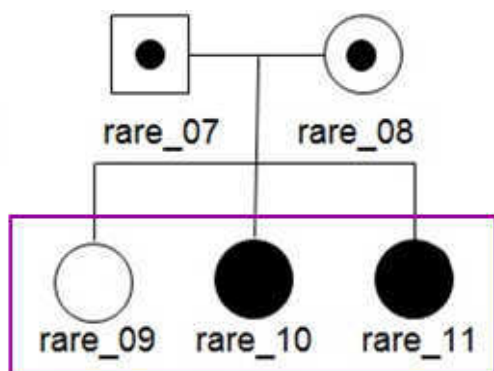


Figura 8: Presentazione clinica del fratello di Rare_06. Si notino i dismorfismi facciali più sfumati e la sindattilia cutanea meno marcata tra il 3[^] e 4[^] dito delle mani, maggiore a sinistra.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori del caso indice si rimanda alla scheda Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 3



E' composta da genitori non consanguinei e tre figlie (in rosso evidenziati i soggetti sequenziati).

La madre gode di buona salute, il padre è affetto da Diabete Mellito tipo 2. La primogenita gode anche lei di buona salute.

La secondogenita (Rare_10) presenta un quadro di *“Disabilità Intellettiva di grado Grave, Anomalie Congenite Multiple e Dismorfismi”*. La gravidanza è decorsa con iperemesi nel primo trimestre. Parto a termine, spontaneo, eutocico. Non ha presentato sofferenza perinatale e i suoi parametri auxologici alla nascita erano tutti intorno al 10°P. Il successivo accrescimento statur-

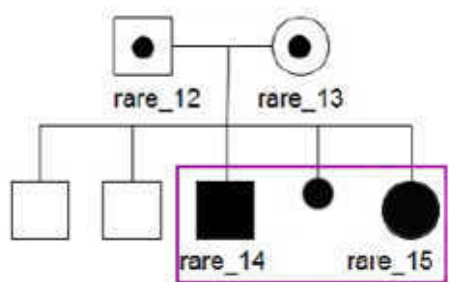
ponderale è avvenuto regolarmente e allo stato attuale i parametri sono al 50°P per peso e circonferenza cranica, mentre l'altezza è al 3°P (NB. la bassa statura è comune a tutti i componenti della famiglia). Ha presentato un ritardo dello sviluppo psicomotorio con maggiore compromissione dell'area del linguaggio. La compromissione della comunicazione, associata all'assenza del linguaggio espressivo, le difficoltà relazionali e le problematiche comportamentali hanno portato alla diagnosi di “*Disturbo dello Spettro Autistico*” associato alla disabilità intellettiva. Ha sviluppato un disturbo del sonno caratterizzato da risvegli notturni frequenti e apnee. La paziente presenta un quadro neurologico caratterizzato da disprassia oro-buccale, adiadococinesia, paratonia, oltre alla caratteristica assenza di linguaggio verbale. E' stata inoltre sottoposta ad intervento di correzione chirurgica per cheratocono bilaterale. Presenta un quadro cardiologico caratterizzato da isolata extrasistolia fascicolare, con ripolarizzazione nella norma. Non ha mai presentato crisi epilettiche e le indagini neuroradiologiche eseguite nel corso degli anni non hanno mai evidenziato anomalie strutturali degne di nota. Le indagini genetiche eseguite, tra cui cariotipo standard, indagine molecolare dei geni *FMRI* e *FOXG1*, sono risultate negative. All'Array CGH si è riscontrata una microduplicazione 16p12.1, estesa circa 501,6 Kb, confermata mediante FISH, che, estesa ai genitori, ne ha dimostrato la segregazione paterna.

La terzogenita (Rare_11) presenta “*Disabilità intellettiva di grado lieve-moderato, note dismorfiche e iposomia*”. La gravidanza è decorsa con minacce d'aborto a partire dal terzo mese, trattate con terapie specifiche e riposo assoluto per tutta la durata della gravidanza. Parto spontaneo alla 36^a settimana, ha presentato sofferenza perinatale (APGAR al 1':3, al 5':7) per cui è stata ricoverata in T.I.N. per asfissia grave, emorragia surrenale bilaterale e ittero. I suoi parametri auxologici alla nascita erano al 50°P per peso e circonferenza cranica, al 75°P per lunghezza. L'accrescimento staturponderale è sempre stato ai limiti inferiori della norma e allo stato attuale i parametri auxologici si collocano tutti intorno al 3°P. Ha presentato un ritardo nell'acquisizione delle tappe dello sviluppo motorio e del linguaggio, sviluppando un grave deficit del linguaggio espressivo e recettivo con importante componente agnosica uditivo-verbale e disprassia globale. Dall'età di 2 anni e 7 mesi ha sviluppato un quadro di epilessia con crisi generalizzate associate ad un corrispettivo elettrico di PO e PPO continui nel sonno generalizzate, per cui assume terapia anticomiziale con valproato. Le indagini clinico-strumentali effettuate non hanno mai messo in evidenza segni patologici degni di nota e anche la RMN encefalo risultava nella norma. Le prime indagini genetiche eseguite sono risultate negative: cariotipo, FISH del chr 15, indagine molecolare dei geni *FMRI*, *MECP2*, *FOXG1*,

SCN1A. Anche in lei, come nella primogenita, è stata riscontrata la medesima mutazione sul cromosoma 16 mediante Array-CGH, ovvero una microduplicazione 16p12.1, estesa circa 570,4 Kb, con segregazione paterna.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 4



E' composta da genitori non consanguinei e 4 figli. La madre è affetta da discopatia, ipoacusia bilaterale pantonale da otosclerosi, stenosi delle arteria succlavia sinistra >70%, noduli tiroidei; il padre è affetto da neuropatia tossico-carenziale per pregressa storia di potus. La fratria è composta da quattro figli; è riferito un aborto spontaneo prima dell'ultima gravidanza. I due figli maggiori sono in buona salute, di contro gli ultimi due figli sono affetti da ritardo mentale e sindrome polimalformativa. I fratelli maggiori hanno presentato entrambi paralisi transitoria del VII nervo cranico; il secondogenito presenta dermatite psoriasica e verosimile diatesi allergica, nonché fistola anorettale recidivante.

Il terzogenito (Rare_14) presenta un quadro di “*Disabilità Intellettiva Lieve-Moderata e Anomalie Congenite Multiple*”.

La gravidanza è decorsa con tabagismo (consumo di 20 sigarette/die) e terminata con taglio cesareo in urgenza alla 31° settimana di gestazione, per presentazione podalica, rottura intempestiva delle membrane e prollasso del funicolo. Ha presentato sofferenza perinatale e crisi di asfissia neonatale per cui è stato trasferito in T.I.N. in prima giornata, dove è stato intubato e ventilato. Lo sviluppo psicomotorio si è caratterizzato per una certa lentezza nelle acquisizioni, prevalentemente nell'area del linguaggio. L'accrescimento staturo-ponderale, inizialmente scarso, si è poi regolarizzato, ma, a causa di una ricerca costante di cibo sin dai primi anni di vita, è andato incontro ad un notevole incremento ponderale. Agli esami ematochimici eseguiti si è riscontrato un costante incremento delle CPK, non associato ad altri segni o sintomi di miopatia. L'EEG ha messo in evidenza delle alterazioni elettriche specifiche in sede anteriore,

prevalenti a destra, in assenza di crisi comiziali. La RMN encefalo ha documentato la presenza di ipoplasia ipofisaria e assenza del peduncolo ipofisario, ectopia della neuroipofisi, ampliamento della cisterna sovrassellare. Alla RX eseguita alla gamba destra si è riscontrata la presenza di fibroma non ossificante. Ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare per il gene *FMRI* e Array-CGH risultati tutti negativi.

Di seguito vengono riportate le foto del paziente. I genitori hanno prestato e firmato il loro consenso informato all'utilizzo e pubblicazione delle foto.

Per i distorsioni e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).



Figura 9: Presentazione clinica del paziente Rare_14.

Rare_15 è l'ultima dei quattro fratelli. La gravidanza è decorsa con tabagismo e assunzione di antiinfiammatori nel primo mese. La madre ha eseguito amniocentesi, risultata negativa, così come nella norma venivano riferite le ecografie intrauterine. Il parto è avvenuto alla 33[^] settimana con taglio cesareo d'urgenza per rottura intempestiva delle membrane e registrazione tococardiografica di sofferenza fetale. La bambina ha presentato sofferenza perinatale per cui è stata trasferita in T.I.N., dove venivano riscontrati atresia esofagea, fistola esofago-tracheale, abnorme dilatazione di un'ansa ileale, dotto di Botallo pervio. Veniva pertanto sottoposta in prima giornata di vita ad intervento in correzione della fistola esofago-tracheale e stomizzazione intestinale. Due giorni dopo la nascita eseguiva ecografia transbregmatica che evidenziava una emorragia subependimale bilaterale e intraventricolare sinistra. A 3 mesi subiva un ulteriore intervento di chiusura del Dotto di Botallo. Sempre a tre mesi di vita ha presentato coxartrite e sepsi da Klebsiella. Ai controlli neuroradiologici effettuati si evidenziava una condizione di idrocefalo; veniva pertanto sottoposta ad intervento di derivazione ventricolo-peritoneale. In tale occasione presentava segni di irritazione meningea con liquor coltura positiva per Klebsiella Pneumoniae. Nell'arco di otto mesi è stata quindi sottoposta a sei interventi di derivazione ventricolo-peritoneale a causa di un abnorme incremento della circonferenza cranica. In un'occasione la bambina andava nuovamente incontro ad un secondo episodio di infezione meningea da Stafilococcus Epidermidis. Ad una successiva indagine TAC cranio si evidenziavano gli esiti di sofferenza cerebrale costituiti da idrocefalo triventricolare multicavitario, con asimmetria dei due emisferi cerebrali e strutture mediane spostate verso sinistra. Subiva inoltre un intervento di ricostruzione del transito intestinale. Altre indagini eseguite dopo l'anno di vita evidenziavano palato con aspetto di schisi sottomucosa, severa anemia sideropenica, alterazioni specifiche e aspecifiche all'EEG, per cui veniva introdotta terapia con neurosensoriale Luminalette, ipoacusia per assenza di onde replicabili bilateralmente con necessità di protesi acustica, strabismo convergente bilaterale. Veniva successivamente diagnosticata una distrofia miopica corioretinica più evidente a sinistra. La bambina andava incontro a numerose gravi infezioni respiratorie, con episodi di polmonite ab ingestis e insufficienza respiratoria, che richiedevano più volte l'assistenza rianimatoria, cui seguivano apnee notturne, per cui attualmente pratica assistenza ventilatoria. Tra i tre e i quattro anni d'età la bambina ha iniziato a pronunciare qualche parola con significato referenziale, continuando a mostrarsi, come da sempre, partecipe all'ambiente. Attualmente il linguaggio, costituito da frasi nucleari, è dislalico e disartrico. La motilità è ridotta in tutte le componenti, con ipodiadococinesia, disprassia ideomotora e dismetria. E'

presente deficit di forza generalizzato e ipotonia grave con maggiore evidenza agli arti inferiori. E' evidente una iperreflessia generalizzata con achillei poliginetici e clono bilaterale esauribile del piede; segno di Babinskj a destra. Non deambula, non sostiene la stazione eretta in autonomia se non per pochi secondi. Ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare per la Sindrome dell'X-fragile, FISH del cromosoma 22 e array-CGH risultati tutti negativi.

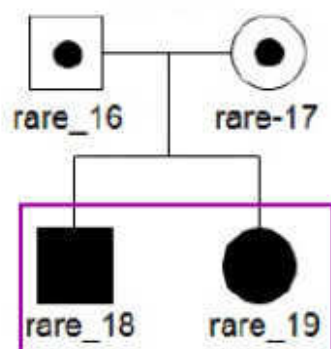
Vengono riportate le foto della paziente. I genitori hanno prestato e firmato il loro consenso informato all'utilizzo e pubblicazione delle foto.

Per i distorsioni e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).



Figura 9: Presentazione clinica della paziente Rare_15

Famiglia 5



E' composta da due genitori sani, non consanguinei. E' presente consanguineità tra i nonni paterni. La madre ha sofferto in adolescenza di imprecisati episodi di restringimento della coscienza. In linea materna è presente familiarità per malformazione atrio-ventricolari. In linea paterna è riferita familiarità per patologie psichiatriche.

Rare_18 è il primogenito. Di lui non si dispongono di molte notizie. La gravidanza è decorsa fisiologicamente e terminata con parto spontaneo, eutocico. Alla nascita non ha presentato nessuna patologia perinatale (APGAR al 1':9). Anamnesticamente veniva riconosciuto un lieve ritardo nello sviluppo psicomotorio (a 6 mesi controllava il capo, a 9 il tronco, a 20 mesi deambulava con sostegno). Da sempre segnalata scarsa partecipazione all'ambiente: non sorrideva, non era attratto da alcuna stimolazione ambientale. All'età di 17 mesi è stato valutato per la prima volta in merito al ritardo nello sviluppo psicomotorio; all'EN si documentava una ipotonia generalizzata, oltre alla scarsa partecipazione all'ambiente. All'età di 23 mesi giungeva a visita neuropsichiatrica per la presenza di episodi caratterizzati da revulsione dei globi oculari, clonie palpebrali, clonie del capo in estensione. Eseguito EEG, risultava significativo per epilessia. Gli episodi comiziali continuavano a peggiorare fino a 60-70/die, con associata caduta a terra. Dato il persistere delle crisi si modificava più volte la terapia con parziale beneficio. Lo sviluppo motorio non veniva compromesso in modo significativo; di contro lo sviluppo psichico risultava particolarmente alterato, in quanto pronunciava le prime parole a 4 anni con partecipazione all'ambiente sempre molto ridotta. Progressivamente il quadro clinico andava evolvendosi, configurandosi un quadro di "*Disabilità intellettiva profonda*" in associazione a "*Disturbo dello Spettro Autistico*", con assenza di linguaggio spontaneo, ma produzione di soli suoni vocalici e gutturali, urla, auto ed eteroaggressività, inversione del ritmo sonno-veglia, partecipazione all'ambiente assente. Il paziente non ha mai acquisito il controllo sfinterico. Data la gravità del fenotipo cognitivo-comportamentale, veniva inserito in

Struttura Riabilitativa in regime residenziale all'età di 18 anni. Allo stato attuale il quadro neurologico è caratterizzato da scarsa partecipazione all'ambiente, assenza di linguaggio espressivo ed impressivo. Il paziente presenta forte magrezza, ipotrofia muscolare severa e grave scoliosi. La deambulazione è pitecoide, con dorso curvo, assenza di pendolarità degli arti che sono prevalentemente addotti al petto. Le ginocchia sono tenute prevalentemente flesse e spesso si osservano balzi sulle stesse con lesioni da contatto e deformità traumatiche. Le mani parimenti sono deformate da lesioni continue da morsicatura.

Gli esami clinico-strumentali, comprendenti anche la RMN Encefalo, sono risultati nella norma. Ha eseguito cariotipo e indagine molecolare per FMR1 e Array-CGH: negativi



Figura 10: Presentazione clinica del paziente Rare_18. Si noti l'atteggiamento di dorso curvo, l'andamento pitecoide e le numerose lesioni da autolesionismo.

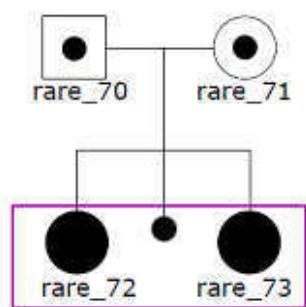
Rare_19 nasce da gravidanza fisiologica, parto a termine, eutocico. Non ha presentato patologia perinatale. Lo sviluppo psicomotorio viene riferito entro i limiti della norma per quanto riguarda l'acquisizione del controllo di capo e tronco, avvenute in epoca regolare; lieve ritardo nell'acquisizione della deambulazione autonoma (18 mesi). Ha invece presentato un più grave ritardo nell'emergenza e nell'evoluzione del linguaggio: ha pronunciato le prime parole a due anni, ha formulato la frase nucleare a 5 anni di età. All'età di 2 anni e 3 mesi ha presentato episodi comiziali caratterizzati da revulsione dei globi oculari, restringimento della coscienza, caduta all'indietro. Inserita terapia specifica, la bambina presentava periodi di remissione e di recrudescenza delle crisi comiziali, fino alla comparsa di episodi tonico-clonici generalizzati durante la prima infanzia. Il peggioramento delle crisi comiziali ha coinciso con la regressione delle acquisizioni, già insufficienti per età. Si delineava un quadro cognitivo-comportamentale di *"Disturbo dello Spettro Autistico"* associato a *"Disabilità Intellettiva grave"*. Nel corso del follow-up si è osservato un progressivo miglioramento del severo quadro di epilessia mioclonica diagnosticata in età pediatrica e, viceversa, un'evoluzione peggiorativa del quadro neuroradiologico, con asimmetria dei ventricoli cerebrali diagnosticata a distanza di pochi anni dalla prima RMN encefalo, risultata negativa. All'esame generale si osserva una importante compromissione dell'assetto osteoarticolare. All'esame neurologico si rileva paratonia diffusa e disprassia. Il linguaggio spontaneo è scarso, caratterizzato dalla produzione di frasi semplici ecolaliche. Scialorrea marcata. La paziente presenta andatura pitecoide, con dorso gravemente curvo da scoliosi. Ha eseguito cariotipo standard e indagine molecolare per il gene *FMRI* risultati negativi.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).



Figura 11: Presentazione clinica della paziente Rare_19.

Famiglia 15



E' costituita da genitori viventi e sani non consanguinei e dalle due figlie. La madre è portatrice beta talassemia. Il padre è portatore di una variante emoglobinica (Hb variante lenta tipo G Philadelphia delle 2 catene). In linea materna un cugino di I grado della madre è deceduto a 29 per complicanze a seguito di intervento cardiocirurgico da cardiopatia non meglio precisata. In linea paterna una zia di I grado e sua figlia hanno sofferto di convulsioni febbrili.

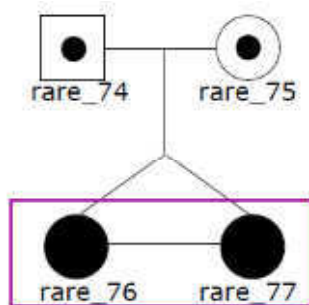
La primogenita (Rare_72) presenta un quadro di *“Disabilità Intellettiva di grado moderato e anomalie congenite multiple”*. La gravidanza è decorsa fisiologicamente ed è terminata con parto spontaneo eutocico. Non ha presentato sofferenza perinatale. Alla nascita la circonferenza cranica e la lunghezza erano al 10°P, il peso era al 50°P. Successivamente la paziente ha presentato un accrescimento staturponderale sufficientemente in regola, per poi presentare un incremento ponderale, con distribuzione dell'adipe prevalentemente truncale e peso superiore al 90°P. Le tappe dello sviluppo psicomotorio sono state acquisite in epoca regolare, seppur la deambulazione autonoma, acquisita ai 18 mesi, fosse sempre goffa, impacciata e a base allargata. Le indagini clinico-strumentali eseguite nel corso degli anni hanno evidenziato, oltre alla disabilità intellettiva di grado moderato (QIT 44, QIV 55, QIP 45), importanti deficit sul versante dell'apprendimento non verbale, bizzarrie comportamentali, epilessia (per cui assume terapia specifica con buon controllo delle crisi), deficit della refrazione visiva e strabismo convergente, scoliosi, lassità ligamentosa. All'esame neurologico sono evidenti disprassia orobuccale, sfumati segni cerebellari e piramidali. La gestalt è sempre stata molto suggestiva per Sindrome di Cohen, ma le indagini molecolari del gene *COH1* (analisi mutazioni puntiformi *COH1*, escluso l'esone 51, analisi dup/del gene *COH1*, esclusi gli esoni 6 e 14) sono risultate negative. Ha eseguito inoltre cariotipo standard, indagine molecolare per il gene *FMRI*, Array-CGH risultati anch'essi negativi.

La seconda gravidanza è terminata con un aborto spontaneo.

La secondogenita (Rare_73), è nata da gravidanza normodecorsa. Il parto è avvenuto a termine e non viene segnalata patologia perinatale. I parametri auxologici erano <10°P per lunghezza e circonferenza cranica, mentre il peso era al 50°P. L'accrescimento staturponderale ha presentato il medesimo andamento della sorella: inizialmente regolare e armonico, per poi presentare un aumento ponderale con distribuzione truncale dell'adipe. Al momento dello studio, l'altezza e la circonferenza cranica sono al 50°P, il peso al 90°P. Ha presentato lieve ritardo dello sviluppo psicomotorio, e tuttora la motricità è goffa e impacciata. Il suo quadro clinico è caratterizzato da *“Disabilità Intellettiva di grado lieve anomalie congenite multiple”*. Anche lei presenta importanti deficit sul versante dell'apprendimento non verbale. Presenta inoltre cefalea confusionale, deficit della refrazione visiva, scoliosi, lassità legamentosa. All'esame neurologico si evidenzia strabismo convergente, disprassia orobuccale, ipotonia moderata agli arti. Ha eseguito i medesimi esami genetici della sorella (cariotipo standard, indagine molecolare per i geni *FMRI* e *COHI*, Array CGH) risultati negativi.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 16



E' composta da genitori viventi, sani, non consanguinei, e da due sorelle gemelle. La madre ha un altro figlio nato da una precedente unione che gode di buona salute. Ha inoltre interrotto volontariamente due gravidanze. La gravidanza delle gemelle (monocoriale, biamniotica) è decorsa con minaccia d'aborto dal IV mese e di parto prematuro al VI mese. Parto alla 34[^] settimana, spontaneo, eutocico.

Rare_76 presenta un quadro clinico di *“Disabilità Intellettiva di grado grave e Disturbo dello Spettro Autistico”* è stata ricoverata in Terapia Intensiva Neonatale per un mese data la

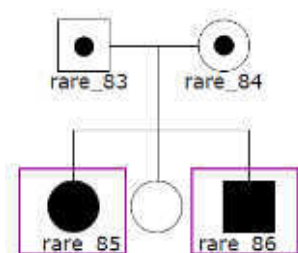
prematurità. I parametri auxologici alla nascita erano <25°P per peso e lunghezza, al 10°P per circonferenza cranica. Il successivo accrescimento staturo-ponderale è avvenuto regolarmente, ma sempre con parametri al di sotto della norma e connotandosi come dato evidente la microcrania (P 25°P, H <10°P, CC <3°P). Ha presentato un ritardo nell'acquisizione delle tappe dello sviluppo psicomotorio, con acquisizione della deambulazione ai 28 mesi. Il linguaggio ugualmente è evoluto in maniera lenta e stentata e tuttora si caratterizza per l'essere gravemente compromesso sul piano sia morfologico che morfosintattico. La comunicazione avviene prevalentemente a livello gestuale. All'esame neurologico si evidenzia ipotonia generalizzata, ipotrofia dei muscoli tricipiti della sura bilaterale e dei cingoli scapolari bilateralmente. Il suo fenotipo comportamentale si caratterizza per repentini cambiamenti del tono dell'umore, auto-eteroaggressività, trattati farmacologicamente, disturbo del sonno caratterizzato da frequenti risvegli notturni. Le valutazioni clinico-strumentali effettuate non hanno evidenziato anomalie degne di nota. Ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare per i geni *FMRI* e *MECP2*, FISH delle regioni subtelomeriche, risultati tutti negativi.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 1).

La gemella (**Rare_77**) è stata trasferita e trattenuta a ricovero in TIN per prematurità e distress respiratorio. Durante il ricovero ha presentato crisi ipoglicemiche e acidosi respiratoria. Il suo quadro clinico è sovrapponibile a quello della sorella ma dal punto di vista neurologico si segnala anche la presenza di disprassia oro-buccale e nella motilità fine, ipodiadococinesia, ipotonia lieve. Ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare per i geni *FMRI* e *MECP2*, FISH delle regioni subtelomeriche, Array-CGH, risultati tutti negativi.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 18



E' formata da genitori viventi, non consanguinei e da tre figli. La madre è affetta da Diabete Mellito tipo 2 in terapia con ipoglicemizzanti orali. In linea paterna è presente familiarità per patologie neuropsichiatriche: i cugini di II grado in linea paterna, appartenenti alla stessa famiglia, sono seguiti presso il nostro Istituto disturbo depressivo, mutismo selettivo, fobia sociale, immaturità affettivo-relazionale, disturbo autistico e sindrome malformativa (sospetta Sindrome di Rubinstein Taybi, non confermata geneticamente).

La primogenita (Rare_85) presenta un quadro di *“Disabilità Intellettiva di grado moderato e Disturbo Autistico”*. La gravidanza è decorsa con minacce di parto prematuro dal VI mese e terminata con taglio cesareo in elezione per presentazione podalica. Non patologie perinatali. I parametri auxologici alla nascita erano al 50°P per peso, al 10°P per lunghezza e al 2°P per circonferenza cranica. L'accrescimento staturale ponderale è sempre stato molto disarmonico, delineandosi una condizione di obesità, con peso >90°P, e microcrazia (CC al 2°P), mentre l'altezza è sempre stata intorno al 25°P. Ha acquisito regolarmente le tappe dello sviluppo motorio, mentre il linguaggio è sempre stato deficitario in riferimento al patrimonio lessicale e agli aspetti pragmatici. Le valutazioni neuropsicologiche eseguite hanno messo in evidenza, oltre alla Disabilità intellettiva di grado moderato (WAIS: QIT 52, QIV 47, QIP 65), un quadro comportamentale caratterizzato da difficoltà nell'area della relazione ed interazione sociale, oltre che nella comunicazione, che hanno condotto alla diagnosi di *“Disturbo dello Spettro autistico”*. L'esame neurologico non ha messo in evidenza segni patologici degni di nota. Alle valutazioni clinico-strumentali si sono evidenziati rigurgito mitralico lieve, dermatite seborroica, scoliosi dorsale destro-convessa, neurinoma del V nervo cranico sn e dismorfismi multipli. Il cariotipo standard ha mostrato una traslocazione apparentemente bilanciata tra un cromosoma 12 e un cromosoma 20 46,XX, t(12;20). L'Array-CGH non ha evidenziato sbilanciamenti del numero delle copie di sequenze genomiche sul campione analizzato.

La secondogenita gode di buona salute e non si è voluta sottoporre allo studio.

Il terzogenito (Rare_86) ha un quadro caratterizzato da “*Disturbo autistico, disabilità intellettiva di grado lieve, dismorfismi multipli, alterazioni EEG e leucomalacia periventricolare*”. La gravidanza è decorsa con minaccia d’aborto e riscontro ecografico di placenta previa. Parto alla 38[^] settimana distocico per 2 giri di funicolo e liquido amniotico tinto. Distress respiratorio ed edema cerebrale diffuso con iperecogenicità ventricolare sn. Ha presentato ritardo dello sviluppo psicomotorio ed evoluzione stentata del linguaggio. L’accrescimento staturo-ponderale risulta ai limiti inferiori della norma per quanto riguarda l’altezza.

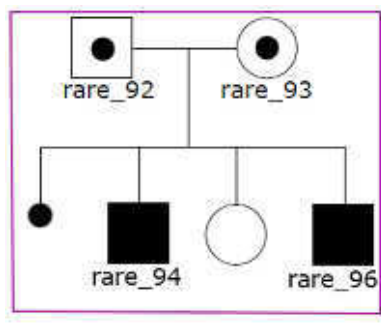
Alla RMN Encefalo: presenza di leucomalacia periventricolare con aree gliosiche prevalenti nei settori posteriori, esiti di sofferenza ischemica perinatale. Presenta inoltre alterazioni EEG.

Alla valutazione neurologica mostra ptosi bilaterale, strabismo divergente in OD e Ny. Lieve ipotonia. Ipodiadococinesia e impaccio motorio.

Ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare per il gene *FMRI* e Array-CGH risultati negativi.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 3).

Famiglia 21



E’ composta dai genitori, viventi e non consanguinei, e da tre figli. Il padre è affetto da Diabete Mellito tipo 1 e retinopatia diabetica. La madre gode di buona salute. Negano familiarità per patologie di interesse neuropsichiatrico.

La prima gravidanza è esitata in aborto spontaneo al IV mese di gestazione.

La gravidanza del **primogenito (Rare_94)** è decorsa regolarmente. Nato a termine con parto indotto farmacologicamente alla 40° settimana, non ha presentato sofferenza perinatale. Alla nascita veniva riscontrata palatoschisi, per cui veniva sottoposto ad intervento chirurgico al 4° mese di vita. L'accrescimento staturico-ponderale, inizialmente stentato per difficoltà di suzione e deglutizione connesse alla malformazione oro-buccale, si è poi regolarizzato e alle ultime valutazioni, eseguite all'età di 15 anni, i parametri auxologici erano al 25°P per peso, al 5°P per altezza e al 50°P la circonferenza cranica. Ha acquisito le tappe dello sviluppo motorio in epoca regolare, ma ha presentato ritardo nel linguaggio per cui ha praticato logoterapia dai 3 ai 7 anni, con miglioramenti più evidenti una volta che il bambino veniva scolarizzato. Ha eseguito valutazioni neuropsicologiche, date le problematiche comportamentali caratterizzate da eccessiva vivacità, irrequietezza motoria, difficoltà di concentrazione, scarso senso del pericolo, intolleranza alle frustrazioni, cui reagiva con crisi di aggressività verbale e fisica nei confronti dei caregivers. Dalle valutazioni effettuate non emergeva alcun deficit cognitivo (QIT 97, QIV 96, QIP 100), ma venivano riscontrata labilità attentiva e un disturbo specifico dell'apprendimento della lettura e della scrittura, caratterizzato da scarso automatismo nel recupero della corrispondenza grafema/fonema e fonema/grafema nella scrittura. Nella lettura evidenti difficoltà nelle prove di correttezza che compromettevano anche la velocità di lettura. Alle valutazioni effettuate, poiché l'impulsività/iperattività erano presenti quasi esclusivamente in ambito scolastico, dove il bambino presentava scarsa motivazione e rifiuto, date le difficoltà, non si giungeva ad una diagnosi di Deficit Attentivo con Iperattività, secondo il DSM-IV. Veniva comunque consigliato un intervento psicopedagogico e psicoeducativo di tipo comportamentale. Successivamente il paziente ha conseguito la licenza media e attualmente lavora come pizzaiolo fuori sede. Ha inoltre eseguito un ricovero extra-regionale c/o il reparto di pediatria dell'Ospedale San Raffaele di Milano, dove eseguiva EEG, RMN encefalo, ABR, risultati tutti nella norma. L'esame neurologico risultava sempre nella norma, fatta eccezione per la presenza di lieve ipotonia globale. Ha eseguito inoltre cariotipo standard, indagine molecolare e test di metilazione della regione 15q11.13, risultati negativi. Veniva consigliato, in caso di negatività dei test effettuati, la FISH per delezione 22q11.1, mai eseguita in quanto i genitori non hanno più portato il bambino a visita.

La secondogenita gode di buona salute.

Rare_96 è il probando, da cui è partito lo studio. È seguito c/o la nostra UOC per "*Disabilità Intellettiva lieve e Anomalie Congenite Multiple*". La gravidanza è decorsa con minaccia d'aborto al IV mese. Il parto è avvenuto alla 39° settimana, spontaneo eutocico. Ha presentato sofferenza

perinatale (APGAR al 1':4 al 5':8) e successiva ipotonia e ipoglicemia transitoria. Alla nascita si riscontrava inoltre la presenza di palatoschisi, corretta chirurgicamente, e piede torto congenito bilaterale. I parametri auxologici alla nascita erano tutti al 50°P. Dai 18 mesi ha presentato un incremento ponderale fino alla grave obesità odierna (peso >99°P, altezza al 50°P, circonferenza cranica >98°P). Ha acquisito regolarmente le tappe dello sviluppo motorio, mentre ha presentato un lieve ritardo nell'esordio del linguaggio, successivamente risolto, pur persistendo qualche difficoltà sul piano fonologico. Alle valutazioni neuropsicologiche eseguite non emergono deficit cognitivi (QIV 74, QIP 72, QIT 70), ma emergevano delle difficoltà negli apprendimenti, caratterizzati da difficoltà nella lettura, scrittura, disgrafia e disortografia, difficoltà nel calcolo e nel problem solving. All'esame neurologico si evidenzia strabismo convergente prevalente a destra, ipotonia generalizzata lieve, impaccio motorio, riflessi osteo-tendinei ipoevocabili su tutto l'ambito, deambulazione autonoma con appoggio dei piedi in varismo. Presenta inoltre un quadro psoriasiforme ai gomiti, ampliamento della cisterna magna e del sistema ventricolare, aree di eterotopia nodulare corticale subependimale, corpo calloso di aspetto ondulato. Alla RMN ipofisi si riscontrava una riduzione dimensionale della adenoipofisi e ipointensità di segnale della neuroipofisi, associata a scarsa impregnazione contrastografica del peduncolo ipofisario. Gli EEG mostravano alterazioni elettriche in assenza di crisi epilettiche. Sono risultate negative tutte le indagini genetiche eseguite: cariotipo standard, indagine molecolare dei geni *FMRI*, *FLNA*, FISH della regione 15q11-13 e relativo test di metilazione, FISH delle regioni subtelomeriche, FISH della regione Xq12-13 e della regione Xq27-28, FISH della regione 6q27, e Array-CGH.

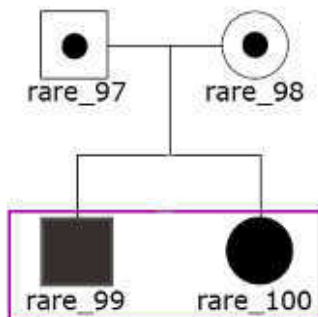
Di seguito le foto del paziente all'età di 10 anni. Per l'utilizzo e la pubblicazione delle foto i genitori hanno prestato e firmato il consenso informato.



Figura 12: Presentazione clinica del paziente Rare_96.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 1).

Famiglia 22



E' composta dai genitori, viventi e sani, non consanguinei, e da due figli. La madre è affetta da Diabete Mellito tipo II, obesità e ipertensione arteriosa, cisti pancreatica. Il fratello maggiore, di 14 anni, concepito tramite stimolazione ormonale, ha presentato lieve ritardo dello sviluppo psicomotorio e idrocefalo esterno. Attualmente è seguito nell'ambulatorio psichiatrico della nostra U.O.C. per problematiche comportamentali. Non vengono segnalate problematiche sul versante

cognitivo. In linea paterna, 2 cugini di primo grado sono deceduti in epoca neonatale probabilmente per Sindrome di Opitz-Frias. E' presente inoltre familiarità in linea paterna per patologie psichiatriche.

La secondogenita (**Rare_100**), è la probanda di questa famiglia. Presenta un quadro di “*Ritardo dello sviluppo Psicomotorio e Disturbo dello Spettro Autistico*”. La gravidanza è decorsa con gestosi e diabete gestazionale, trattato con insulinoterapia. I movimenti fetali, iniziati al IV mese, venivano riferiti ipovalidi fino al termine. Al test di translucenza nucale risultava un rischio aumentato per Sindrome di Down, per cui veniva eseguito amniocentesi che risultava nella norma. Fin dai primi controlli ecografici risultava scarso accrescimento. Alla 32° settimana insorgeva un quadro di preeclampsia e veniva riscontrata sofferenza fetale, che richiedevano il parto pretermine con taglio cesareo d'urgenza. APGAR 1 al 1', 2 al 5'. A causa del distress respiratorio acuto la bambina veniva trasferita c/o la struttura di Terapia Intensiva Neonatale. Si diagnosticava inoltre una Dotto di Botallo pervio, che richiedeva intervento di correzione cardiocirurgico, eseguito ad un mese e a tre mesi di vita, dato l'insorgere di scompenso congestizio e anuria, ha richiesto il trasferimento presso la cardiocirurgia dell'Istituto Gaslini. Ha presentato deficit di suzione ed è stata alimentata per gavage fino al primo intervento cardiocirurgico. Alle valutazioni neuropsichiatriche eseguite si documentava un ritardo nello sviluppo psicomotorio, in particolare un ritardo nelle acquisizioni delle tappe evolutive del linguaggio, con un quoziente intellettivo totale risultante di 53. Dal punto di vista neurologico presentava deficit attentivo, scarsa partecipazione all'ambiente, lassità legamentosa, stazione eretta e deambulazione prive di note patologiche. Il linguaggio era strutturato ma con notevoli note dislaliche, ecolalia immediata e differita, deficit pragmatici. La compromissione della comunicazione, le difficoltà relazionali e le problematiche comportamentali portavano alla diagnosi di “*Disturbo dello Spettro Autistico*” associato alla disabilità intellettiva.

La paziente esegue regolari controlli endocrinologici, dato lo scarso accrescimento staturponderale. E' regolarmente seguita presso l'IRCCS Gaslini dove è stato diagnosticato coloboma irideo e retinico ed è stata sottoposta ad adenotonsillectomia. Presenta inoltre un'anomalia dello sviluppo dentario con ritardo nell'eruzione e anomalia di forma a sinistra II/III. All'RX mani e piedi mostra una deviazione degli assi falangei e all'RX-bacino una lieve rotazione del bacino. La bambina ha eseguito cariotipo standard, indagine molecolare dei geni *FMRI*, *CHD7* (nel sospetto di una Sindrome CHARGE) *CREBBP* (nel sospetto di una Sindrome di Rubinstein Taybi), e Array-CGH risultati tutti negativi. E' stato effettuato anche lo studio dei geni responsabili della Sindrome

di Noonan, *PTPN11*, *SOS1*, *KRAWS*, *SHOC2*, *MEK1* E *MEK2* risultati tutti negativi. Sul gene *RAF1* è stata riscontrata una mutazione, ovvero una trasversione c.281 G>T, in eterozigosi nell'esone 7 (RefSeq NM_002880.3). Tale sostituzione amioacidica p.Ser274Ile nel gene *RAF1* non è descritta in letteratura ed è assente nelle banche dati sulle varianti del genoma umano. Essa è di significato incerto. L'analisi del DNA parentale ha dimostrato che la variante è stata ereditata per via materna.

Per i dimorfismi e le anomalie maggiori e minori si rimanda alle schede Phenomizer (Allegato 1).

9.2 I risultati del laboratorio:

Viene riportato nella tabella 12 il numero di varianti identificate nelle famiglie con la metodica WES.

Family Id	Raw Variants	Filter By Variant And Genotype Quality	Filter By Maf	Filter By Feature	Filter By Genetic Inheritance	Filter By False Positives	Filter By Cosegregation (Total)	Filter By Cosegregation (Comp-Het)	Filter By Cosegregation (Hom-Rec)	Filter By Cosegregation (De-Novo)	N°Candidate Genes
1	172426	128544	12358	808	220	160	52	8	44	-	
2	176561	140445	14764	943	35	29	29	12	16	1	1
3	167429	119136	11794	678	106	59	23	16	7	-	
4	155457	117681	12151	764	210	128	47	11	36	-	
5	158700	125003	12603	690	211	130	67	16	51	-	
15	157919	127667	12486	719	203	130	83	19	64	-	1
18	157441	125205	11903	802	223	166	93	23	70	-	
21	190879	151992	15938	1001	49	45	17	10	7	1	2
<i>Average</i>	167102	129459	13000	801	157	106	51	14	37	0	

Tabella 12: Numero di varianti identificate nelle famiglie con la metodica WES.

Per la ricerca delle varianti sono stati seguiti due filoni di ricerca: il primo ha riguardato le varianti di tipo qualitativo, SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) e INDELs (Insertions/Deletions), il secondo le varianti di tipo quantitativo, CNVs (Copy Number Variations).

Al fine di ricercare le varianti qualitative (SNPs e INDELS) è stata appositamente studiata una pipeline creata su ORIONE, la piattaforma GALAXY del CRS4 a Pula.

Questa pipeline di analisi ha previsto i seguenti passaggi:

1. Chiamata delle varianti ed identificazione di quelle causali.

Le singole variazioni nucleotidiche e piccoli indels sono stati rilevati utilizzando il Genome Analysis Toolkit (GATK) (DePristo et al., 2011) e glfSingle (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/glfTools/>), e successivamente riunite in un unico Variant Calling Format file (VCF).

2. Filtraggio discreto.

Sono state filtrate via le varianti con un MAF (Minor allele frequency) $>1\%$ descritte nei database: dbSNP 135; progetto 1000 Genomes; progetto Genomi Sardi. Il presupposto è che le varianti causali di malattie mendeliane mostrino una penetranza completa, siano molto rare e quindi anche in eterozigotità mostrino una bassa frequenza nei database pubblici o nei dati di sequenziamento di individui sani di controllo. Un filtraggio discreto per l'analisi di malattie recessive, utilizzando un cutoff di $MAF > 1\%$ consente di eliminare un elevato numero di varianti non collegate con il fenotipo in esame, sebbene nei casi in cui la malattia abbia una frequenza superiore a 1 su 10,000 con questo tipo di filtro le varianti causali verrebbero perse. Tuttavia la maggior parte di malattie autosomiche recessive associate a DI ha una frequenza inferiore a tale soglia e conseguentemente la frequenza allelica nella popolazione è inferiore rispetto al cutoff di $MAF > 1\%$ prescelto. (Bamshad et al.; 2011).

3. Prioritizzazione delle varianti candidate.

- La funzione biologica di ogni variante è stata annotata usando il VCF Coding Snps software (<http://www.sph.umich.edu/csg/liyanmin/vcfCodingSnps/index.shtml>), che assegna tutte le varianti ad una specifica categoria funzionale, 5' e 3' UTRs, intronica, sinonima, non sinonima, sito di splicing, nonsense in base ai trascritti presenti nella regione. Le varianti sono state quindi prioritizzate in base alla maggiore probabilità di essere causali: nonsense, alterazioni del sito di splicing, indels, non sinonime e sinonime (queste ultime verranno riconsiderate nei casi insoluti per il loro possibile ruolo nell'attivare splicing alternativi, Hunt et al., 2009).

- Effetto predetto sulla funzione delle proteine: questo è particolarmente critico per le varianti non sinonime o missenso in cui la sequenza amminoacidica viene modificata con conseguenze funzionali che dipendono dal grado di conservazione biochimica rispetto all'amminoacido sostituito. Per definire questo sono stati utilizzati programmi che prevedono diversi approcci/algoritmi quali SIFT (Kumar et al., 2009), PolyPhen2 (Adshubei et al., 2010), GERP (Davydov et al., 2010).
- Analisi di network-malattie: questi predicono un ruolo della proteina in un percorso biologico e/o l'interazione con geni o proteine che sono noti per causare un fenotipo simile (Erlich et al.).
- Utilizzo delle informazioni dell'albero genealogico e delle modalità di trasmissione: modello recessivo e *de novo*.

Il modello recessivo presuppone che l'individuo affetto sia omozigote per una variante putativa causale o composto eterozigote (portando due varianti distinte nello stesso gene), e che i genitori siano portatori obbligati per tali varianti. Nelle famiglie con due o più fratelli affetti, abbiamo applicato un approccio descritto recentemente (Rodelsperger et al., 2011), basato sull'individuazione di regioni cromosomiche identiche per discendenza (IBD), considerando i genotipi derivati dal sequenziamento esomico. Questo approccio è stato sviluppato per studiare famiglie prescindendo dalla presenza o meno di consanguineità. Si assume che tutti i soggetti affetti nella famiglia abbiano ereditato la stessa combinazione di aplotipi paterni e materni (IBD = 2) a livello del locus malattia. Questo metodo permette di ridurre lo spazio di ricerca per il gene malattia ad un 1/5 o 1/10 del genoma. Oltre a ciò, rappresenta anche un approccio efficace per superare eventuali limiti tecnologici. Infatti, gli attuali metodi di cattura delle sequenze non garantiscono una copertura completa dell'esoma come ad esempio nel caso di trascritti sconosciuti o di esoni non inclusi nel disegno del saggio utilizzato. Nel caso in cui la variante causale non possa essere identificata dai semplici passaggi di filtraggio, le regioni con IBD = 2 possono contenere la variante candidata e quindi un controllo manuale o il sequenziamento tradizionale Sanger può essere una strategia ragionevole di conferma dei risultati. In ogni caso, prima di procedere con il sequenziamento Sanger, la strategia di filtraggio verrebbe rivalutata attentamente, solo in tali regioni, con criteri meno rigorosi per stabilire se la variante causale sia stata effettivamente sequenziata, ma non soddisfi le condizioni richieste.

Il modello *de novo* presuppone invece che l'individuo affetto sia eterozigote per una variante putativa causale e che i genitori invece non siano portatori per tale variante. Nel caso di due fratelli affetti si può ipotizzare un meccanismo di mosaicismo germinale.

Utilizzando questa pipeline, si è così arrivati, partendo da una media di varianti grezze per famiglia pari a 167102, a una media di 106 varianti per famiglia prioritizzando le varianti. Successivamente, utilizzando le informazioni dell'albero genealogico e delle modalità di trasmissione: modello recessivo e *de novo*, sono state ritenute potenzialmente correlate alla DI una media di 51 varianti per famiglia. Attraverso lo studio di network e ruolo nella patogenesi della malattia in studio, sono state identificate 5 varianti potenzialmente patogene ripartite in 3 delle famiglie prese in esame, dato concordante con gli ultimi studi del campo dai quali si evince un tasso di successo dell'analisi esomica del 25-30%.

Per quelle famiglie in cui non sono state riscontrate varianti d'interesse, sono stati rilassati i criteri di filtraggio per includere anche le varianti con un MAF fino a 0,05, presenti negli UTR, distanti dal sito canonico di splicing per un intorno di 13 bp, e varianti sinonime potenzialmente patogeniche sulla base delle annotazioni predette dal software SILVA; in particolare è stato valutato il potenziale impatto delle varianti posizionate nel 3'UTR sui siti di legame di microRNA e sul segnale di poliadenilazione. Questa fase di analisi più estesa è tuttora in corso.

Al fine di ricercare le varianti qualitative CNVs, è stata eseguita un'attenta indagine bibliografica e sono state individuate diverse metodiche computazionali specifiche per la loro analisi. Sono stati valutati e confrontati sperimentalmente i principali algoritmi e si è deciso infine di portare avanti l'analisi delle CNVs focalizzandosi sull'utilizzo del software CoNIFER..

L'analisi attraverso questo software ha permesso di identificare alcune CNVs potenzialmente correlabili alla DI di taglia variabile, da quelle minori di 10Kb a quelle superiori a 1Mb, che in totale hanno interessato 59 geni ripartiti in 6 famiglie su 9 e che sono attualmente in fase di studio.

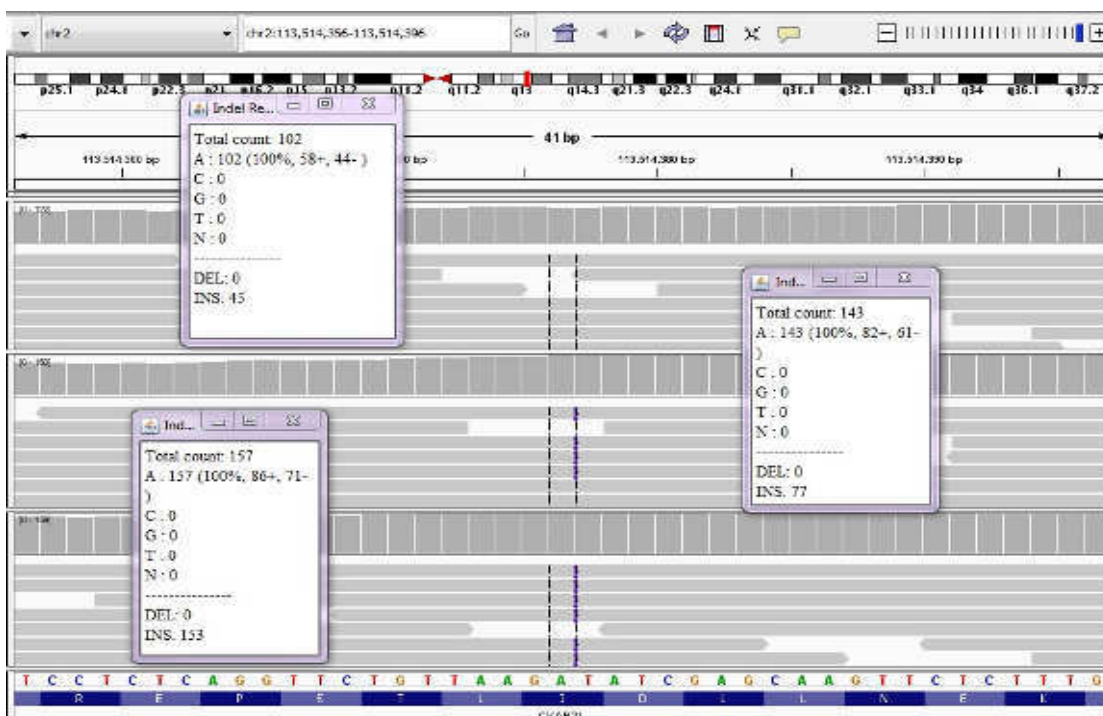
Le 5 varianti potenzialmente patogene identificate in 3 delle famiglie prese in esame, sono state successivamente validate tramite sequenziamento tradizionale Sanger e co-segregazione con la malattia all'interno della famiglia.

9.2.1 VARIANTI RICONTRATE NELLE FAMIGLIE COINVOLTE NELLO STUDIO

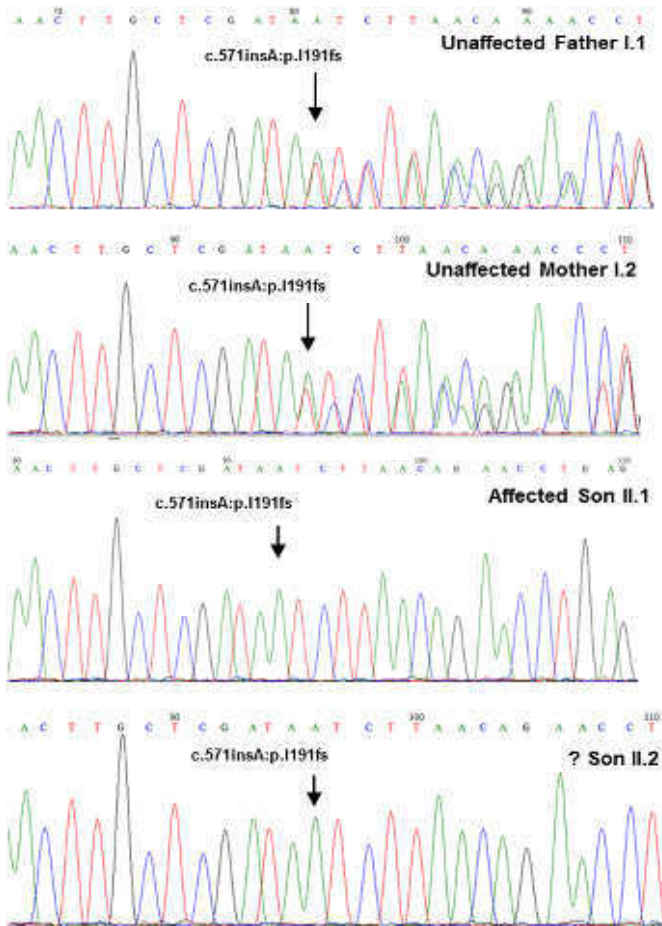
Famiglia 2

In questa famiglia, il cui probando (**Rare_06**) presentava una diagnosi clinica di Sindrome di Filippi, è stata riscontrata una mutazione nel gene *CKAP2L* (Cytoskeleton Associated Protein 2-Like). Questo gene è stato successivamente trovato mutato in altri pazienti non correlati geneticamente ma con lo stesso fenotipo clinico, permettendo così di confermarne il ruolo nella patogenesi della sindrome.

Chr2: 113514376 *CKAP2L* : NM_152515: exon4:c.?571insA:p.I191fs (no rs)



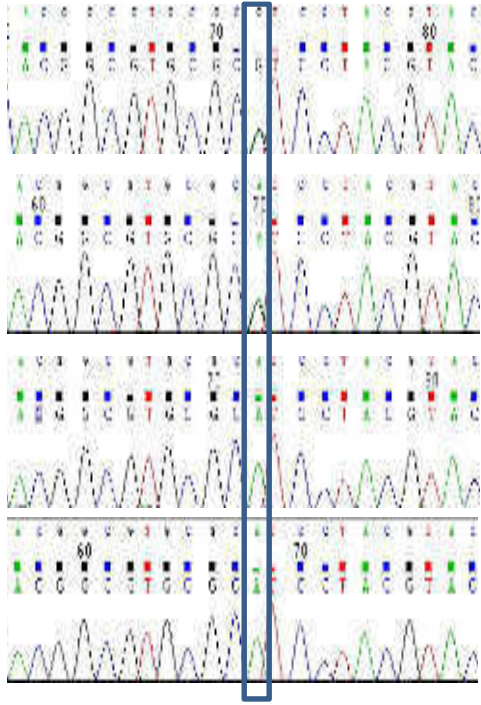
Tale mutazione è stata riscontrata in entrambi i figli in omozigosi e nei genitori in eterozigosi.



Famiglia 15

Nella famiglia 15 è stata individuata una variante potenzialmente patogena nel gene *NTSR1*

Chr20:61386232 *NTSR1*: NM_002531: exon2:c.G910A:p.V304I (rs2273075)



NTSR1 appartiene alla grande superfamiglia di recettori accoppiati a proteine G e media le molteplici funzioni della neurotensina (NT). Questa è un ben noto neuromodulatore in particolare della trasmissione dopaminergica nel cervello. NT, agendo sul suo recettore *NTSR1*, riduce la funzione fisiologica del recettore dopaminergico e regola i comportamenti dopamina-dipendenti. Al momento tuttavia non sono noti fenotipi clinici legati a mutazioni in questo gene.

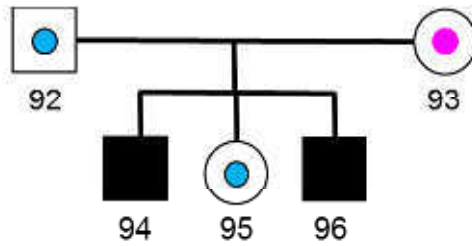
Famiglia 21

In questa famiglia sono state evidenziate due varianti potenzialmente candidate, due come composti eterozigoti a carico del gene *NYAP2*, presenti in entrambi i fratelli maschi ed ereditate ciascuna da uno dei genitori, e una del gene *CREBBP*, *de novo*, presente solo nel caso indice (**Rare_96**).

Chr2:226273614 *NYAP2*: NM_020864.1: exon2:c.G18C;p.M6I (no rs)

Chr2:226378241-226378242 *NYAP2*: NM_020864.1: exon3:c.[G376A;G377A];p.G126N

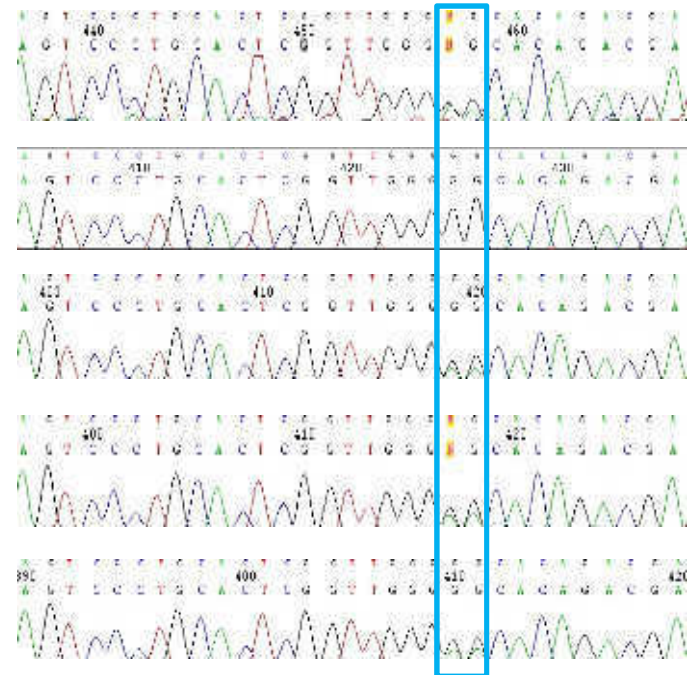
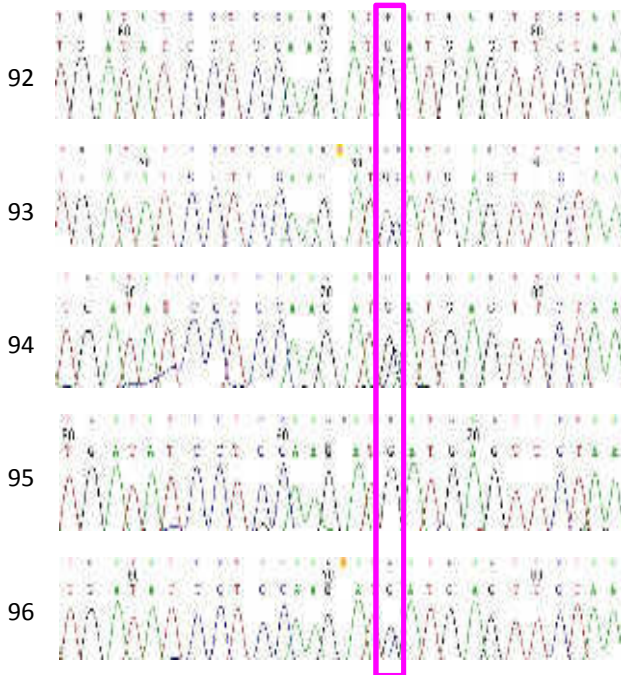
Chr16:3781195 *CREBBP*: NM_004380: exon30:c.G5170A;p.E1724K (no rs).-



	92	93	94	95	96
NYAP2					
c.G18C: p.M6I	-/-	+/-	-/-	+/-	+/-
c.[G376A; G377A]: p.[G126N]	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-
CREBBP					
c.G5170A: p.E1724K	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-

NYAP2
c.G18C: p.M6I

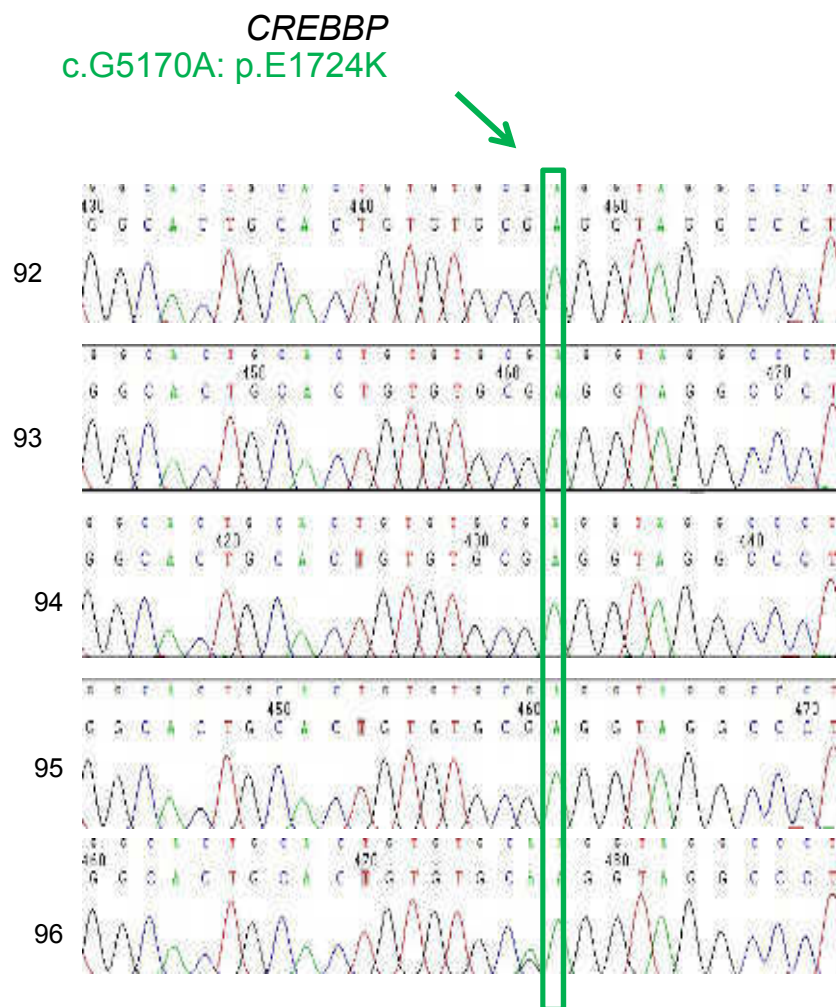
NYAP2
c.[G376A; G377A]: p.[G126N]



La variante c.G18C:p.M6I è di derivazione materna ed è presente in eterozigosi anche nella sorella sana **Rare_95**. La variante c.[G376A; G377A]: p.G126N è invece *de novo* presente solo in **Rare_96**.

NYAP2 (Neuronal tYrosine-phosphorylated Adaptor for the PI3K) è un regolatore del segnale PI3K nei neuroni: lega PI3K al complesso WAVE1 per regolare la morfologia neuronale.

La via del PI3K ha un ruolo chiave nei disordini del neurosviluppo (autismo, epilessia, schizofrenia). L'inattivazione del gene *Nyap*, nei topi, provoca una riduzione delle dimensioni del cervello e dell'allungamento dei neuriti. Al momento tuttavia non sono noti fenotipi clinici legati a mutazioni in questo gene.



Le mutazioni a carico di questo gene causano la Sindrome di Rubinstein Taybi (a trasmissione autosomica dominante, ma descritta per lo più come evento *de novo*). La proteina codificata da *CREBBP* ha un'attività acetiltransferasica e stabilizza le proteine con il complesso di trascrizione. La variante identificata in **Rare_96** non è mai stata descritta associata a tale sindrome, ma analisi in silico ne hanno evidenziato un carattere potenzialmente patogenetico. Una rivalutazione critica del fenotipo clinico di **Rare_96** alla luce di quanto trovato, ne ha permesso l'inquadramento all'interno della sindrome di Rubinstein Taybi.

10. DISCUSSIONE

Lo scopo del nostro studio è stato quello di ampliare la conoscenza dell'eziopatogenesi dei disordini del neurosviluppo utilizzando tecnologie di sequenziamento di ultima generazione (Next Generation Sequencing o NGS, in particolare il sequenziamento dell'intero esoma (whole exome sequencing o WES) in un gruppo selezionato di famiglie seguite presso l'Ambulatorio di Sindromi e Malattie Rare dell'U.O.C. di Neuropsichiatria Infantile di Sassari.

La diagnosi eziopatogenetica dei disordini del neurosviluppo, soprattutto in riferimento alla disabilità intellettiva (DI) e ai disordini dello spettro autistico (ADs), ha subito un notevole incremento che va dal 13 al 22%, a seconda delle casistiche, con l'avvento dell'array-CGH (Shoukier et al, 2012; Battaglia et al, 2013; Vincent et al, 2010) mentre con il WES ha subito un ulteriore incremento di circa il 25% (Yaping Yang et al *Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders*. N Engl J Med 2013; 369:1502-1511).

Prima di tale esame il percorso diagnostico comprendeva il cariotipo a bandeggio, l'analisi FISH per determinate regioni cromosomiche e l'analisi molecolare per singoli geni, utilizzando pertanto una strategia indiretta, attraverso l'uso di un'analisi arbitraria del genoma senza un target di regione definito e senza un'ipotesi diagnostica specifica alla base, o diretta con l'uso di target per certe regioni note, coinvolte in riarrangiamenti come le regioni subtelomeriche o particolari segmenti. Queste metodiche, che hanno portato inizialmente allo sviluppo delle FISH e che successivamente hanno permesso di sviluppare gli array cromosomici, hanno consentito una analisi dettagliata di centinaia o migliaia di tratti genomici deleti o duplicati, ovvero alle cosiddette CNVs, *Copy Number Variations* (Shaffer LG et al 2007). Con il Cromosomal Micro Array è stato possibile specificare e diagnosticare delezioni o duplicazioni di tratti genomici più piccoli di quelli visibili con le metodiche del cariotipo a bandeggio (<5Mb).

Le possibilità di pervenire ad una diagnosi eziopatogenetica sono ulteriormente aumentate con l'evolversi delle tecniche e l'utilizzo di strumentazioni sempre più sofisticate. Una di queste è la Next Generation Sequencing, grazie alla quale si stanno delineando nuovi "geni malattie": analizzando infatti, gruppi omogenei di pazienti, è stato ed è possibile identificare la base genetica di sindromi finora delineate solo dal punto di vista clinico. Ne è un esempio l'identificazione del gene *MLL2*, che se mutato, è responsabile della Sindrome di Kabuki. L'uso esteso a più pazienti appartenenti a differenti famiglie e con quadri sindromici non omogenei ha permesso l'individuazione di nuovi "geni malattia" e di nuove descrizioni sindromiche. Ciò ha portato di conseguenza ad un corretto inquadramento nosografico delle sindromi.

Queste metodiche (CMA e WES) hanno aperto la strada alla dismorfologia inversa cioè alla definizione dei quadri sindromici a partire dal genotipo e rappresentano un approccio secondo il quale non è necessaria la diagnosi clinica o sindromica, per identificarne la base genetica.

Sulla base di tali considerazioni è stato progettato il nostro studio, che ha coinvolto 10 famiglie, individuate all'interno di un vasto gruppo di pazienti afferenti all'Ambulatorio Sindromi e Malattie Rare dell'UOC di Neuropsichiatria Infantile dell'AOU di Sassari, sulla base di criteri di selezione ben definiti. Tutte le famiglie coinvolte sono state informate riguardo la tipologia dello studio e i tempi necessariamente lunghi per poter portare a termine un'indagine di così ampio spettro. Le famiglie hanno pertanto prestato il loro consenso informato (vedi Allegato 3). Alcune di esse hanno anche dato l'autorizzazione all'utilizzo del materiale iconografico in nostro possesso, ai fini di studio.

Uno dei primi criteri di selezione è stato quello di analizzare famiglie con uno o più figli affetti da DI in associazione o meno a ADs, con anomalie congenite multiple (MCA) e dismorfismi suggestivi per un quadro sindromico, la cui eziopatogenesi genetica, al momento dell'inizio dello studio, non era ancora stata definita. Ciò, ovviamente, dopo aver analizzato tutti i pazienti coinvolti e valutati gli esami genetici sino ad allora effettuati e/o l'eventuale difficoltà organizzativa ad eseguirne degli altri (vedi il caso della Famiglia 5 in cui uno dei figli è stato istituzionalizzato, dato il quadro grave di disabilità). Tutti i pazienti coinvolti sono stati seguiti in maniera dettagliata sin dai primi mesi di vita presso la nostra Unità, pertanto è stato possibile valutarne l'evoluzione grazie ad un costante follow up clinico-strumentale. L'utilizzo di una terminologia standardizzata secondo un "vocabolario controllato" di Human-Phenotype Ontology (HPO) (<http://www.human-phenotype-ontology.org/hpweb/showterm?id=HP:0002450>), tramite l'utilizzo dello strumento Phenomizer (<http://compbio.charite.de/phenomizer/>) ha permesso di definire le anomalie fenotipiche di una determinata patologia. Dalla compilazione delle schede Phenomizer è stato possibile delineare le caratteristiche fenotipiche salienti per ogni singolo paziente, ma è stato anche utile nel fornire al clinico ed al biologo una percentuale di probabilità di coinvolgimento di determinati geni candidati. La scelta riguardo l'utilizzo di questo strumento è stata dettata dal fatto che ormai sempre più studi mettono in evidenza il beneficio conseguente all'utilizzo di data-base di raccolta delle caratteristiche fenotipiche associati a singole malattie, come OMIM, Orphanet e il più recente HPO. L'analisi di questi dati ha portato al concetto che le malattie con caratteristiche fenotipiche simili sono causate da mutazioni in geni funzionalmente correlati. Per esempio, malattie geneticamente eterogenee come l'anemia di Fanconi, la Sindrome di Bardet-Biedl o la sindrome di Usher sottendono mutazioni di geni di un singolo modulo biologico. Ad oggi comunque è difficile fare

ricerche analoghe dei fenotipi di patologie complesse, poiché mancano le risorse per portare avanti analisi di comparazione. Si è inoltre cercato di individuare quelle famiglie i cui figli con disabilità avessero un quadro clinico simile o quanto meno con delle caratteristiche in comune. Su questo ultimo punto è doveroso fare sin da subito una considerazione: dall'analisi delle schede Phenomizer, non per tutti i fratelli coinvolti, è stato possibile delineare dei quadri simili, cosa che non ha permesso di stabilire con chiarezza i criteri di selezione dei geni eventualmente coinvolti nella patogenesi del quadro clinico di entrambi i fratelli.

La tecnica del Whole Exome Sequencing (WES) permette lo sviluppo della medicina genomica personalizzata mediante l'analisi congiunta dei fenotipi e dei risultati del WES. Si è dimostrato che l'uso di HPO per analizzare il fenotipo aumenta l'abilità del WES nell'identificare geni candidati e portare ad una diagnosi clinica ed eziopatogenetica.

Dal nostro punto di vista, l'utilizzo del vocabolario standardizzato HPO con la compilazione delle schede Phenomizer ha sicuramente permesso di delineare in maniera più precisa il quadro fenotipico di ogni singolo probando, tuttavia vanno sottolineate alcune criticità emerse col nostro lavoro.

Molte caratteristiche di particolare importanza emerse dalla storia clinica dei nostri pazienti, ma relative all'anamnesi patologica remota, sono state ugualmente inserite nelle schede Phenomizer, pur non essendo più presenti al momento della compilazione (per esempio le manifestazioni epilettiche). Un sistema computerizzato ovviamente non è in grado di cogliere tale differenza temporale e riteniamo pertanto sia utile in un prossimo futuro che l'analisi venga integrata con l'introduzione di algoritmi relativi anche al decorso temporale della malattia, alla sua severità, all'età di esordio e alla risposta ai trattamenti, con l'obiettivo di fornire una risorsa completa alla ricerca bioinformatica translazionale di tutto lo spettro delle malattie umane.

Inoltre la compilazione delle schede Phenomizer ha permesso di individuare la probabilità con cui alcuni geni potevano essere coinvolti nell'eziopatogenesi del quadro clinico. Tuttavia, una volta effettuata l'analisi WES, il risultato genetico non ha mostrato alcuna corrispondenza con quanto atteso dall'analisi clinica preliminare. Ciò probabilmente potrebbe essere legata ad una non corretta individuazione dei tratti fenotipici più salienti o all'inserimento di dati clinici troppo numerosi che hanno fatto sì che le conseguenti correlazioni tra essi fossero troppo indaginose, non arrivando quindi ad una corretta correlazione genotipo-fenotipo.

D'altra parte, è indicativo il caso della Famiglia 5, in cui per entrambi i fratelli, inserendo i dati clinici nel Report Phenomizer si è giunti ad individuare come possibile diagnosi la sindrome di Pitt-Hopkins con coinvolgimento del gene *TCF4*. Effettivamente la gestalt dei pazienti, in particolare

quella della probanda, è molto simile a quella dei pazienti affetti da tale sindrome, come possibile vedere dalle foto sotto riportate.



Pertanto abbiamo ritenuto opportuno focalizzare la ricerca genomica in tal senso, alla ricerca di variazioni qualitative o quantitative del gene *TCF4*.

I risultati del nostro studio sono in linea con quanto riportato finora in letteratura, con una percentuale di successo che si attesta intorno al 25-30%.

Per quanto riguarda le anomalie genetiche riscontrate per alcuni pazienti all'analisi di sequenziamento, verranno di seguito discusse le eventuali correlazioni col quadro clinico.

Un ottimo risultato è stato trovato nel probando della **Famiglia 2**, che già aveva una diagnosi clinica di Sindrome di Filippi. Tale sindrome è una malattia rara a trasmissione probabilmente autosomica recessiva caratterizzata da microcefalia, deficit di crescita prenatale e postnatale, sindattilia e caratteristiche facciali, tra cui un ampio ponte nasale e ipoplasia delle narici. Alcuni individui affetti hanno DI, convulsioni, criptorchidismo, anomalie di denti e capelli.

Sia nel probando che nel fratello minore è stata riscontrata una mutazione omozigote frameshift c.571dupA(p.Ile191Asnfs*6) nel gene *CKAP2L*, che codifica per la proteina "cytoskeleton-associated protein 2-like" (CKAP2L).

Durante il nostro studio, altri ricercatori che condividevano con la nostra UO la presa in carico del paziente, hanno condotto la medesima analisi di sequenziamento, arrivando alle nostre stesse conclusioni. Tuttavia, a causa di un comportamento deontologicamente scorretto, hanno deciso di interrompere la collaborazione decennale con il nostro Ambulatorio, e di pubblicare nel 2014 a

proprio nome un articolo sulla prestigiosa rivista *The American Journal of Human Genetics* (Hussain MS, Battaglia A et al “*Mutations in CKAP2L, the human homolog of the mouse Radmis gene, cause Filippi syndrome*”) riportante l’identificazione del gene *CKAP2L* come implicato nella patogenesi della sindrome. Ci conforta solo il fatto che attraverso il nostro studio siamo giunti alla stessa conclusione prima di questa pubblicazione.

La **Famiglia 15**, composta da genitori con due figlie, è stata inserita nello studio in quanto entrambe affette da DI e MCA, ma soprattutto con un fenotipo clinico e comportamentale molto simile. Tuttavia la secondogenita, che ha goduto di una precoce presa in carico riabilitativa, presenta un quadro psicometrico migliore rispetto a quello della primogenita. Nelle due probande è stato individuato e confermato, tramite sequenziamento Sanger, una variante candidata in omozigosi del gene *NTSR1*. Il gene *NTSR1* e la sua proteina che codifica per il recettore 1 della neurotensina (NT) sono altamente espressi nel sistema nervoso centrale; in particolare sono entrambi altamente espressi nei neuroni dopaminergici. Studi su modelli murini hanno suggerito un ruolo importante della NT nell’apprendimento e nella memoria. I ratti a cui viene iniettata la NT mostrano un aumentato apprendimento spaziale. Gli analoghi della NT aumentano la working memory, il consolidamento stabile dei ricordi, e l’apprendimento, viceversa gli antagonisti di *NTSR1* riducono la memoria di lavoro. Nell’uomo uno studio di Lee et al del 1999 descriveva un’associazione tra i polimorfismi del gene *NTRSI* e la schizofrenia. Molti studi in seguito hanno confermato il ruolo importante giocato dall’ippocampo nella working memory. Ultimamente si è arrivati alla conclusione che la maggiore espressione del gene *NTRSI* influenzi positivamente la strutturazione della sostanza bianca ippocampale e ne incrementi pertanto la funzionalità in maniera direttamente proporzionale: l’incrementata espressione genica corrisponde ad una elevata memoria di lavoro e più in generale ad un incremento globale dell’intelligenza (Li j, Chen C, Lei X et Al: *The NTSR1 gene modulates the association between hippocampal structure and working memory performance*. *Neuroimage* 2013;75: 79-86). Al momento non sono stati descritti fenotipi clinici associati a questo gene, per cui prima di poterne confermare il ruolo nella patogenesi della malattia in studio sono necessari ulteriori studi sia genetici che funzionali.

Nella **Famiglia 21**, composta dai genitori e da tre fratelli, di cui uno seguito presso la nostra U.O. fino all’età adolescenziale e l’altro, ultimogenito, seguito per DI e MCA, sono state riscontrate varianti candidate in due geni diversi. Due come composti eterozigoti a carico del gene *NYAP2*,

presenti in entrambi i figli maschi, ed una *de novo*, nel gene *CREBBP*, presente solo nell'ultimogenito.

Le mutazioni del gene *NYAP2* sono state ereditate dai genitori: c.G18C:pM61, trasmessa dalla madre ai due figli maschi, e c.[G376A; G377A]: p.[G126N], trasmessa dal padre a tutti e tre i figli.

La famiglia dei geni *NYAPs* codifica per delle fosfoproteine dette *Neuronal tYrosine-phosphorylated Adaptor for the PI3K* che regolano il segnale della phosphoinositide 3-kinase (PI3K) nei neuroni. L'inattivamento del gene *Nyap*, nei topi, provoca una riduzione delle dimensioni del cervello e dell'allungamento dei neuriti. La via del PI3K, regolata da *NYAP*, è fondamentale in vari eventi neuronali, a partire dalla morfogenesi, ma anche per la crescita, la sopravvivenza, l'apoptosi e la regolazione dello scambio di ioni. Pertanto i geni *NYAPs* sono espressi prevalentemente nei neuroni in crescita. Dopo aver ricevuto lo stimolo dalla Contattina 5, le *NYAPs* vengono fosforilate. Una volta fosforilate interagiscono con PI3K p85 e attivano PI3K, Akt e Rac1. Inoltre le *NYAPs* interagiscono con il complesso WAVE1, che media il rimodellamento dell'actina del citoscheletro dopo l'attivazione di PI3K-produced PIP3 e Rac1. Il legame tra PI3K e il complesso WAVE1 permette di regolare la morfologia neuronale. La via del PI3K ha un ruolo chiave nei disordini del neurosviluppo (autismo, epilessia, schizofrenia) (Yokoyama K. et al., 2011).

Al momento non è chiaro il coinvolgimento di tale gene nell'eziopatogenesi del quadro clinico dei fratelli. Tuttavia un ruolo del *NYAP2* potrebbe essere posto in relazione col fatto che entrambi hanno presentato un disordine del neurosviluppo, pur con gravità differenti (il primo prevalentemente disturbi specifici dell'apprendimento, il secondo disturbi aspecifici dell'apprendimento e DI lieve). Al momento non sono stati descritti fenotipi clinici associati a questo gene, per cui prima di poterne confermare il ruolo nella patogenesi della malattia in studio sono necessari ulteriori studi sia genetici che funzionali.

L'altro gene mutato solo nel probando è il *CREBBP*. E' una mutazione *de novo* non ereditata dai genitori. La proteina codificata da questo gene ha un'attività acetiltransferasica e agisce stabilizzando le interazioni tra proteina e complessi di trascrizione. Mutazioni in questo gene sono responsabili della Sindrome di Rubinstein Taybi (RSTS, OMIM 180849, 613684), patologia rara a trasmissione autosomica dominante caratterizzata da una serie di anomalie a carico di viso, denti, arti, associato a ritardo di crescita. Traslocazioni cromosomiche coinvolgenti questo gene sono state associate con la Leucemia Mieloide Acuta. Nella RSTS vi può essere il coinvolgimento anche di

cuore, reni, occhi, orecchie e pelle. I pazienti presentano inoltre anomalie comportamentali e DI (quoziente intellettivo medio 35-50) ed hanno un aumentato rischio di sviluppare tumori, quali leucemia e linfomi. La diagnosi di RSTS è prevalentemente clinica. In circa il 55% dei pazienti è stata riscontrata un'anomalia molecolare o citogenetica: mutazioni missense/non-sense del gene *CREBBP* che codifica per la CREB-binding protein, mutazioni di *EP300* che codifica per E1A-binding protein, microdelezioni del cromosoma 16p13.3, e altre anomalie ugualmente riportate in letteratura come associate a tale condizione clinica. Tuttavia le analisi genetiche svolte per identificare le mutazioni nella RSTS hanno spesso portato a risultati poco validi, probabilmente a causa di un'inadeguatezza dei metodi usati, e delle molte mutazioni non confermate. Per la ricerca di mutazioni genetiche nella RSTS sono state utilizzate tecniche di FISH o di Array CGH, invece il sequenziamento esomico o dell'intero genoma è stato utilizzato raramente.

Nel caso del probando della famiglia 21, tale mutazione non è mai stata riportata prima associata a RSTS, ma l'analisi effettuata in silico è indicativa di patogenicità. Questo risultato ha reso necessaria una rivalutazione dei dati clinici in nostro possesso e delle schede Phenomizer, in quanto il quadro clinico e la storia anamnestica non erano suggestivi per RSTS. I dati sicuramente più fuorvianti erano: la macrosomia, presente sin dalla nascita, seguita dalla forte obesità, le anomalie neuroradiologiche, l'assenza di DI importante e del fenotipo comportamentale che caratterizza la Sindrome. Ma analizzando sotto una diversa prospettiva i dati in nostro possesso, è emerso che alcuni segni clinici potevano invece essere indicativi, benché presenti in forma sfumata o mascherati da altri più evidenti, tra questi, ad esempio: la facies lunare, le rime palpebrali rivolte verso il basso, il palato ogivale, l'obesità che ugualmente nella RSTS può presentarsi durante l'infanzia o l'adolescenza, e le anomalie a carico della rotula. D'altronde è nota dalla letteratura l'esistenza di una espressività variabile a carico del fenotipo clinico.

Si precisa inoltre che nel corso degli anni il paziente è stato visitato da diversi Esperti Dismorfologi, senza pervenire mai ad una diagnosi di questo tipo. Il risultato ottenuto in questo caso rafforza il concetto che il WES sia una procedura altamente valida che permette anche la diagnosi di sindromi note, laddove il fenotipo clinico sia sfumato o fuorviante.

11. CONCLUSIONI

Al momento l'approccio diagnostico sicuramente più rapido per l'identificazione delle basi genetiche di malattie mendeliane è sicuramente quello del WES. Questo permette infatti di facilitare il processo diagnostico su larga scala, consentendo di analizzare più geni in un unico esame e riducendo i tempi di attesa per l'ottenimento di una diagnosi. Analizzando tutto l'esoma contemporaneamente il WES può evidenziare varianti a carico di numerosi geni, portando quindi necessariamente ad una stretta collaborazione tra il Biologo che produce e analizza i dati ed il Clinico che deve correlare il genotipo con il fenotipo, secondo i principi della Dismorfologia Inversa. Alla luce di queste nuove possibilità diagnostiche, il ruolo del Clinico Specialista va necessariamente rivisto, in quanto avrà il compito di effettuare sia un'analisi del fenotipo clinico pre-WES, che una rivalutazione clinica alla luce dei risultati ottenuti (post-WES).

Nel 2011, durante una sessione plenaria al Meeting of the European Society of Human Genetics, un Esperto in genetica clinica predisse "...medical genetics will disappear as a separate specialty...". Al contrario noi concordiamo con quanto sostenuto da Hennekam e Biesecker (2012), secondo i quali non vi sarà una scomparsa del ruolo del Dismorfologo, quanto piuttosto una trasformazione da cui ne trarranno beneficio soprattutto i pazienti.

Un importante cambiamento sarà quello dell'approccio alla diagnosi. Sino ad adesso, i test di diagnosi molecolare richiedevano un notevole dispendio economico oltre che lunghi tempi d'attesa, necessari oltre che per l'analisi genetica in sé, anche per la definizione dei pazienti all'interno di precise categorie e l'individuazione di diagnosi differenziali, prima di avviare le indagini più appropriate. Al contrario, con l'avvento del WES il processo diagnostico è molto più rapido e il clinico deve focalizzare la sua attenzione sulle manifestazioni cliniche correlate con i risultati ottenuti post WES. L'identificazione e la conferma di un gene causativo permette infatti di formulare oltre che la diagnosi, un corretto follow up clinico-strumentale e, ove possibile, adeguati trattamenti farmacologici. Offre inoltre alla famiglie l'opportunità di una diagnosi genetica prenatale per le future gravidanze.

Ciò che i pazienti vogliono sapere, infatti, è: "che cosa ho?", "qual è la causa?", "quali conseguenze possono esserci?" e infine "cosa posso fare?". I pazienti solo raramente sono interessati all'esatta natura della mutazione, quanto piuttosto mostrano maggiore apprensione in merito alle conseguenze sulla propria salute e a quella dei propri cari.

Un altro cambiamento in senso positivo dell'utilizzo del WES è che consente di arrivare ad una diagnosi eziopatogenetica, evitando indagini lunghe e stressanti, oltre che invasive, come le biopsie.

Tuttavia è importante riconoscere che al momento attuale la probabilità di successo del WES si attesta intorno al 25-30%, per cui vi è ancora una grossa percentuale di pazienti che rimane senza una diagnosi genetica. Pertanto si ravvisa la necessità di una stretta collaborazione tra Clinico e Biologo. Il ruolo del Clinico è sempre quello di identificare, nella maniera più accurata possibile, le caratteristiche della malattia, cercando sempre di individuare le cosiddette “maniglie diagnostiche”, ovvero i dati clinici più salienti che messi in correlazione tra loro, possono guidare verso una diagnosi genetica.

Per quanto riguarda il ruolo del Biologo, nello specifico volto all’identificazione e caratterizzazione delle varianti genetiche più promettenti, è quello di portare avanti un’analisi primaria dettagliata dei network in cui agiscono i geni candidati. Sarà così possibile evidenziare nuove interazioni proteiche e quindi identificare nuove vie o ampliare quelle già conosciute.

Finora, complesse correlazioni funzionali sono state identificate tra proteine codificate da vari geni implicati nella DI. Da notare che queste correlazioni convergono in comuni percorsi molecolari e cellulari, pertanto si può ipotizzare che l’alterazione di un qualunque componente della stessa rete molecolare abbia un effetto simile sul fenotipo (Van Bokhoven, 2011). L’approccio e la tecnologia ottimali da utilizzare per la validazione biologica delle varianti coinvolte saranno stabiliti una volta identificati i geni candidati, tenendo conto della natura predetta dei loro prodotti proteici e/o trascrizionali e delle loro possibili interazioni con i prodotti di altri geni. Al momento, in assenza di tali informazioni, possiamo pianificare approcci standard, quali ad esempio l’analisi del pattern di espressione temporale e tissutale sia umano che murino, saggi di mutagenesi/luciferasi, analisi fenotipica di appropriati modelli animali o lo sviluppo di saggi cellulari.

In conclusione possiamo affermare che con l’uso della Next Generation Sequencing ed in particolare della WES abbiamo nettamente migliorato la formulazione della diagnosi eziopatogenetica nei Disordini del Neurosviluppo così come i tempi per il suo raggiungimento .

Partendo dalla consapevolezza che sia importante la definizione eziopatogenetica di “nuove” sindromi, mediante l’utilizzo degli array cromosomici e del più attuale WES, riteniamo sia necessario l’approfondimento genetico nei casi familiari, allo scopo di verificare una malattia a trasmissione autosomica-recessiva.

Riteniamo inoltre che l’uso di questa strategia diagnostica sia utile e fruttuosa solo se portata avanti in stretta collaborazione dai Clinici, Genetisti e Biologi.

ALLEGATO 1
Consenso informato



Azienda Ospedaliero-Universitaria



Sassari

ISTITUTO DI NEUROPSICHIATRIA INFANTILE

Direttore Prof. Stefano Sotgiu



Consiglio Nazionale delle Ricerche

Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica

Cittadella Universitaria di Monserrato

S.S. 554 bivio per Sestu Km 4,500 – 09042 Monserrato (CA)

Tel 070/6754591 – 070/6754594

Fax 070/6754652

C.F. 80054330586



Genetica Medica

Dipartimento di Scienze Biomediche

Università degli Studi di Sassari

Viale San Pietro 43c - 07100 Sassari

Sassari 06.06.2014

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"
Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

Pag. 119

CONSENSO INFORMATO

Informazioni per i partecipanti allo studio

Progetto di ricerca di genetica condotto su un campione di pazienti.

Titolo dello studio: “Un approccio integrato basato su nuove tecnologie genome-wide per un miglioramento della diagnosi e delle conoscenze sulle basi eziopatogeniche della Disabilità Intellettiva sindromica idiopatica”.

L'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica del CNR di Cagliari in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Biomediche - Genetica Medica dell'Università degli Studi di Sassari e con l'Istituto di Neuropsichiatria Infantile dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Sassari, sta conducendo uno studio dal titolo: **“Un approccio integrato basato su nuove tecnologie genome-wide per un miglioramento della diagnosi e delle conoscenze sulle basi eziopatogeniche della Disabilità Intellettiva sindromica idiopatica”**. La invitiamo a leggere il seguente opuscolo, *Consenso Informato: partecipare ad uno studio di genetica condotto su un campione di pazienti*. Con questo modulo intendiamo chiedere la sua autorizzazione ad effettuare un prelievo di sangue nell'ambito di uno studio per l'identificazione di nuovi geni coinvolti in varie forme di Disabilità Intellettiva. Questo modulo potrebbe contenere parole che lei non conosce, perciò chiedi pure spiegazioni al Medico Sperimentatore che le illustrerà nei dettagli lo studio.

L'organizzazione che conduce la ricerca è l'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB) – Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) di Cagliari presso la Cittadella Universitaria di Cagliari. Il Responsabile scientifico della ricerca è la Dr.ssa Laura Crisponi. Il co-responsabile scientifico della ricerca è il Prof. Francesco Cucca del Dipartimento di Scienze Biomediche - Genetica Medica - Università degli Studi di Sassari. Il responsabile clinico della ricerca è il Prof. Stefano Sotgiu dell'Istituto di Neuropsichiatria Infantile - Azienda Ospedaliera Universitaria di Sassari.

Perché conduciamo questo studio?

Dott.ssa Chiara Perria

“Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin”
Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

Pag. 120

La Disabilità Intellettiva (DI) è una patologia molto comune con una prevalenza dell'1-3% nella popolazione generale; può manifestarsi come condizione clinica isolata (DI non sindromica) o può essere associato ad altre caratteristiche cliniche (DI sindromica). La DI è una condizione estremamente eterogenea le cui cause possono essere molte e diverse, sia genetiche che non. Le cause genetiche sono responsabili di circa il 50% dei casi di DI, soprattutto se presenti malformazioni e/o caratteristiche dismorfiche. Nonostante i notevoli progressi fatti, la patofisiologia della DI rimane ancora oscura ed è difficile identificare uno specifico difetto genetico in un paziente con DI a causa dell'eterogeneità genetica e clinica. E' di fondamentale importanza approfondire la ricerca in questo campo per lo sviluppo di future strategie diagnostiche e terapeutiche, per evitare ai bambini affetti da DI ed ai loro familiari odissee diagnostiche nello sforzo di trovarne la causa. A questo scopo sono necessari approcci multipli sequenziali che includono la continua raccolta di un ampio numero di pazienti ben caratterizzati e delle loro famiglie per correlazioni genotipo/fenotipo, studi genetici estesi a tutto il genoma, sequenziamento diretto per identificare mutazioni nei geni candidati. Questo studio permetterà di arrivare a formulare una diagnosi in un numero maggiore di soggetti, fornendo alle famiglie informazioni utili per il rischio di ricorrenza. Una precisa diagnosi consentirà inoltre di aumentare le conoscenze relative a questa condizione e di giungere ad una specifica correlazione tra genotipo e fenotipo, portando, in alcuni casi, a comprendere i meccanismi patogenetici responsabili, ad identificare nuovi loci genomici, nuovi geni causativi e target terapeutici.

Che cosa implica lo studio?

La partecipazione è su base volontaria. È richiesto l'arruolamento allo studio del paziente e dei suoi genitori. Se accetta di donare un campione di sangue per questo studio, verranno prelevati circa 15 ml di sangue da una vena del braccio. Di questi 15 ml, 7 ml saranno processati per l'estrazione di DNA e 7 ml per l'estrazione di RNA e proteine, allo scopo di identificare e studiare il gene implicato nell'insorgenza della malattia. Lo studio non prevede l'assunzione di farmaci né la somministrazione di trattamenti sperimentali e verrà compilata una cartella clinica. Conserveremo i campioni prelevati del nucleo familiare con alcuni dati come l'età, l'etnia e il sesso e dati riguardanti i problemi di salute. Non metteremo comunque il nome sui campioni ma solo il codice numerico identificativo. Lei potrà decidere di partecipare allo studio anche senza acconsentire alla conservazione del suo campione o di quello di suo figlio. I dati clinici del paziente, raccolti nella prima fase di studio, verranno inseriti in un database; sarà garantito l'anonimato mediante l'utilizzo

del medesimo codice numerico identificativo del campione. Le chiavi di tali codici saranno accessibili solo ai responsabili dello studio.

In che modo le mie informazioni saranno tenute riservate?

In base alla legge 196/2003, concernente “**La tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali**”, i dati personali suoi e di suo figlio verranno utilizzati esclusivamente ai fini di ricerca e saranno mantenuti assolutamente anonimi. Una volta prelevato, al campione di sangue verrà assegnato un codice numerico identificativo. Il nome e qualunque altra informazione che leghi l’identità al campione saranno tenuti separati. I documenti che legano il nome al codice numerico verranno tenuti in un armadio chiuso a chiave. Solo ai responsabili della ricerca sarà consentito l’accesso a tali documenti. Nessuno tra coloro che leggeranno o sentiranno una relazione su questo studio sarà in grado di identificare i partecipanti allo studio perché prima di rendere noti i risultati i dati resi anonimi saranno uniti a quelli delle altre persone che hanno preso parte allo studio. Il materiale biologico identificato dai codici anonimi verrà conservato nei congelatori del Dipartimento di Scienze Biomediche - Genetica Medica dell’Università degli Studi di Sassari, e dell’Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica – CNR di Cagliari. Alla fine della ricerca le verranno comunicati i risultati dello studio che riguardano specificatamente il suo nucleo familiare e se lo desidera più in generale quelli dell’intero studio.

Quali sono i rischi dello studio?

Partecipando al nostro studio si andrà al rischio “minimo” che comporta un prelievo di sangue. Il prelievo di sangue nella maggioranza dei casi non è né doloroso né rischioso. In taluni casi è possibile che si possa sentire un po’ di fastidio nel momento in cui si inserisce l’ago della siringa o che si possa creare un livido nella sede del prelievo. C’è infine un raro rischio di svenire o di avere una infezione locale. Alcune persone possono accusare vertigini durante il prelievo, ma questo disturbo scompare facendo sdraiare la persona. Come già detto per proteggere le sue informazioni il suo campione verrà conservato con un codice numerico e non con il suo nome o il suo indirizzo e solo i responsabili dello studio potranno accedervi. Sebbene nessuno possa garantire in modo assoluto la confidenzialità, l’utilizzo di un codice numerico riduce grandemente la possibilità che

qualcuno, oltre ai responsabili dello studio, possa collegare il suo nome al suo campione o ai risultati del suo test.

Ci sono dei vantaggi per chi partecipa allo studio?

Lei non riceverà alcun beneficio diretto donando un campione di sangue per questo studio, ma ci aiuterà ad identificare i geni che determinano l'insorgenza di varie forme di Disabilità Intellettiva. Tuttavia le informazioni e i risultati di questo studio potranno aiutarci in futuro a prevenire e a trattare la malattia.

Sono previste spese o rimborsi?

Non le costerà niente fornire un campione di sangue per questo studio e non le saranno addebitati i costi dei test per la ricerca. Non è prevista per lei alcuna spesa se deciderà di partecipare allo studio. Lei non riceverà alcun compenso per il suo tempo ed il suo disturbo. Scopo della nostra ricerca è quello di migliorare la salute pubblica. Talvolta questo tipo di ricerche possono portare a risultati o invenzioni di valore commerciale. Noi potremmo brevettarle o darle in licenza di modo che una company potrà avere il diritto esclusivo di produrre e vendere prodotti o test basati sulla nostra scoperta. Alcuni dei profitti derivanti potranno andare ai ricercatori e alle organizzazioni che hanno condotto questo studio ma lei non riceverà alcun compenso economico.

In che modo verrò a conoscenza dei risultati dello studio?

Sarà informato della presenza di eventuali alterazioni genetiche, emerse dallo studio del suo campione e di quello di suo figlio, che sicuramente sono associate alla malattia e dalla cui conoscenza lei potrebbe trarre vantaggio. Gli studi condotti sui campioni che raccoglieremo servono ad accrescere le conoscenze sulle cause genetiche della Disabilità Intellettiva. Renderemo partecipi dei nostri risultati altri ricercatori attraverso pubblicazioni mediche.

Che cosa succederà al mio campione una volta terminato lo studio?

Quando il nostro studio sarà terminato, vorremmo conservare il suo campione di sangue non utilizzato, al fine di poterlo impiegare in ricerche future. Al momento non abbiamo progetti di ricerca specifici, ma eventualmente un comitato etico istituzionale, come quello che la tutela nel corso di questo studio, riesaminerà ed approverà ogni progetto futuro; se la ricerca dovesse essere diversa da quella del presente studio le chiederemo di firmare un nuovo consenso. I campioni di DNA/RNA/proteine verranno congelati e conservati in una banca apposita presso l'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica – CNR di Cagliari. Il suo campione sarà conservato con un codice numerico e gli archivi che legano il numero di codice al suo nome saranno custoditi. Lei può decidere di prendere parte allo studio ma non acconsentire alla conservazione del suo campione. Lei avrà la possibilità di esprimere la sua scelta in merito a ciò alla fine di questo modulo.

Quali sono i miei diritti come partecipante?

La partecipazione è su base volontaria. Lei potrà decidere di revocare il consenso in qualsiasi momento senza spiegazione alcuna. Lei può scegliere di non voler conservare il suo campione e comunque partecipare a questo studio. Oppure può accettare di conservare il suo campione e decidere di ritirarlo successivamente. In questo caso dovrà contattare il responsabile dello studio per informarla di questa sua decisione; il suo campione sarà eliminato ma tutti i dati derivati fino a quel momento dall'analisi del suo campione continueranno a far parte della ricerca. A tale proposito potrà esprimere il suo parere alla fine del consenso informato.

Chi posso contattare in caso di problemi o domande?

Questo documento spiega lo scopo e le modalità di svolgimento dello studio. La preghiamo di leggerlo attentamente e di chiedere spiegazioni se ci dovesse essere qualcosa di non chiaro. Durante lo studio, verrà informato di eventuali cambiamenti nel progetto che possano in qualche modo condizionare la sua partecipazione al nostro progetto. Prima di firmare questo documento è importante che voi ne comprendiate il suo contenuto. Se vuole porre qualunque domanda riguardo

le modalità dello studio ed i suoi diritti e/o ritiene di poter essere danneggiato dal partecipare a questo studio contatti i responsabili della ricerca: Dr.ssa Laura Crisponi al seguente numero telefonico 070 6754591; Prof. Francesco Cucca 070 6754543; Prof. Stefano Sotgiu 0792062354.

..

Consenso e firma

Io sottoscritto/a _____

Essendo stato/a informato/a sulle modalità di partecipazione allo studio, ed in particolare sulla necessità di essere sottoposto/a ad un prelievo di sangue (che verrà utilizzato per l'analisi genetica) esprimo il consenso alla partecipazione al progetto: “Un approccio integrato basato su nuove tecnologie genome-wide per un miglioramento della diagnosi e delle conoscenze sulle basi eziopatogeniche della Disabilità Intellettiva sindromica idiopatica”. A tal fine

Dichiaro

- di aver ricevuto una copia di questo consenso e di aver letto le parti del consenso che riguardano la conservazione del mio campione di sangue per ricerche future. La mia scelta a riguardo è (per favore contrassegnare solo una delle risposte):

non acconsento alla conservazione ed all'utilizzo del mio campione di sangue per studi futuri sulla Disabilità Intellettiva

acconsento alla conservazione del mio campione di sangue, con un codice numerico, ed al suo utilizzo per studi futuri sulla Disabilità Intellettiva, previa approvazione del protocollo di studio da parte del Comitato Etico di appartenenza.

- di essere stato informato sui diritti e sui limiti di cui alla Legge 196/2003, concernente “La tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali”.

Esprimo il mio consenso ed autorizzo l'Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica del CNR di Cagliari ed il Dipartimento di Scienze Biomediche Genetica Medica, Università degli Studi di Sassari al trattamento dei miei dati personali, resi assolutamente anonimi, esclusivamente ai fini dello studio: "Un approccio integrato basato su nuove tecnologie genome-wide per un miglioramento della diagnosi e delle conoscenze sulle basi eziopatogeniche della Disabilità Intellettiva sindromica idiopatica".

Firma del partecipante allo studio:

Data

Firma della madre:

Data

Firma del padre:

Data

Firma del rappresentante legale:

Data

Firma del medico sperimentatore:

Data

MODULO PER LA RICHIESTA DELLA DISTRUZIONE DEL CAMPIONE DI DNA

Protocollo:

Codice numerico del paziente:

Medico sperimentatore:

Data richiesta del campione:

Motivazione della richiesta del campione:

Ritiro del consenso

Fallimento dello studio

Altri,

specificare

Localizzazione del campione	Azione richiesta
○ sito dello studio	Distruggere il campione e riportare la data (gg/mm/aa) di distruzione Spedire via fax questo modulo al monitor dello studio entro 5 giorni dalla data della richiesta di distruzione e conservare la copia originale insieme al resto della documentazione clinica
○ laboratorio centrale	Spedire via fax questo modulo al laboratorio centrale entro 5 giorni dalla data della richiesta di distruzione e conservare la copia originale insieme al resto della documentazione clinica dello studio

Firma del medico sperimentatore

NOTIFICA DELL'AVVENUTA DISTRUZIONE DEL CAMPIONE EMATICO

Protocollo:

Codice numerico del paziente:

Medico sperimentatore:

Data di ricezione della richiesta di distruzione:

Data di eliminazione del campione ematico:

Firma del responsabile del laboratorio:

Data della firma:

Dopo aver compilato questo modulo in ogni sua parte inviarne una copia via fax al medico sperimentatore entro 5 giorni lavorativi dall'avvenuta notifica al laboratorio centrale.

Allegare questo modulo al resto della documentazione

ALLEGATO 2

Tabelle riassuntive delle notizie anamnestiche e delle valutazioni cliniche, strumentali e genetiche eseguite sulle Famiglie coinvolte nello studio

Tabella A: Notizie anamnestiche

FAMIGLIA	GRAVIDANZA E PARTO	DECORSO POSTNATALE	SPM	PARAMETRI AUXOLOGICI ALLA NASCITA	PARAMETRI AUXOLOGICI ATTUALI	FAMILIARITA' PER PATOLOGIE NPI
FAMIGLIA 1						
Rare_01	Gravidanza fisiologica. Parto a termine, spontaneo, eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9) Sepsi neonatale in seconda giornata. Displasia congenita dell'anca	Sviluppo motorio regolare. Ritardo del Linguaggio	P 3,110kg (>25°P) L 50 cm (75°P) CC33 cm (25°P)	P 61 kg (<50°P) H164 cm (>50°P) CC 57 cm (>50°P)	Linea materna: familiarità per Disabilità intellettiva. Madre: ha presentato un Ritardo del Linguaggio. Linea paterna: familiarità per patologia epilettica (cugino di I grado), disabilità intellettiva, sindrome polimalformativa non meglio precisata (cugino di I grado).
Rare_02	Gravidanza fisiologica. Parto a termine, spontaneo, eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Sviluppo motorio regolare. Ritardo del Linguaggio	P 3,080 kg (>25°P) L51 cm (75°P) CC 35cm (25°P)	P 55 kg (50°P) H164,5 cm (50°P) CC 54,2 cm (>50°P)	
Rare_03	Gravidanza fisiologica. Parto a termine, spontaneo, eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9). Displasia congenita dell'anca e ernia inguinale.	Lieve ritardo motorio. Ritardo del linguaggio.	P 3,570kg (90°P) L 50 cm (50°P) CC 34 cm (>25°P)	P 55 kg (90°P) L 155 cm (75°P) CC 55cm (>50°P)	
FAMIGLIA 2						
Rare_06	IUGR e conseguente parto con taglio cesareo programmato alla 34 [^] sett.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Grave ritardo dello sviluppo psicomotorio. Ha acquisito il controllo del capo, mantiene il tronco con atteggiamento cifotico. Presente lo schema del passo, deambula con soso bilaterale. Il linguaggio è limitato a suoni gutturali e vocalizzi utilizzati per esprimere piacere o dolore.	P 1,205 kg (-2DS) L 38 cm (-2 DS) CC 26 cm (-3,3 DS)	P 17 kg (<<3°P) L 110 cm (<<3°P) CC 41,5 cm (>>3°P)	Il fratello ha presentato IUGR dall'8 [^] mese di gravidanza. Presenta inoltre sindattilia cutanea bilaterale tra III-IV dito delle mani, e tra II-III-IV dita dei piedi, bilateralmente, criptorchidismo DX.
FAMIGLIA 3						
Rare_10	Gravidanza fisiologica (iperemesi nel I trimestre). Parto a termine, spontaneo, eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Ritardo dello SPM, con maggiore compromissione del linguaggio.	P 2,6 kg (10°P) L 30,5 cm (10°P) Non nota la CC	P 58 kg (50°P) H150 cm (3°P) CC54,5 cm (50°P)	Linea materna: ritardo del linguaggio e probabile Disabilità Intellettiva (zia), crisi epilettiche (zii di II grado).
Rare_11	Minacce d'aborto dal 3 [^] mese, trattate con terapia specifica e riposo assoluto. Parto alla 36 [^] sett.	Sofferenza perinatale (APGAR al 1':3, al 5':7). Ricovero in TIN per prematurità, asfissia grave, emorragia surrenale bilaterale, ittero.	Ritardo dello SPM, con maggiore compromissione del linguaggio.	P 2,4 kg (50°P) L 49 cm (75°P) CC 51,2 cm (50°P)	P 28,8 kg (<3°P) H144 cm (<3°P) CC 51,2 cm (<2°P)	

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"

Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

FAMIGLIA 4						
Rare_14	Tabagismo per tutta la durata della gravidanza. Parto in urgenza alla 31 [^] sett. Per rottura intempestiva delle membrane, presentazione podalica, prolasso del funicolo.	Sofferenza perinatale (APGAR al 5':1). Trasferito in TIN per asfissia neonatale.	Ritardo dello sviluppo psicomotorio, prevalente nel linguaggio.	P 1,520 kg (50°P)	P103 kg (97°P) H 184 cm (90°P) CC 57 cm (75°P)	
Rare_15	Tabagismo per tutta la durata della gravidanza. Parto alla 33 [^] sett. per rottura intempestiva delle membrane e registrazione tococardiografica di sofferenza fetale, con taglio cesareo d'urgenza.	Sofferenza perinatale (APGAR al 1':1, al 5':2) Operata in prima giornata per correzione atresia esofagea e stomizzazione intestinale, dato il riscontro di un'abnorme dilatazione di un'ansa ileale. Due giorni dopo: riscontro di emorragia subependimale bilaterale ed intraventricolare sinistra.	Ritardo dello sviluppo psicomotorio, prevalente nel linguaggio.	P 1,585 cm (25°P) L 44 cm (50°P) CC 30 cm (25°P)	P 41 kg (10°P) H 130 cm (<3°P) CC 52 cm >2°P)	
FAMIGLIA 5						
Rare_18	Gravidanza fisiologica. Parto a termine, spontaneo eutocico.	Non sofferenza perinatale.	Lieve ritardo nello SPM e successiva regressione e decadimento cognitivo.	Non noti	Non noti	Linea materna: familiarità per malformazione atrio-ventricolare, Sind. Di Leoni. Linea paterna: familiarità per patologie psichiatriche.
Rare_19	Gravidanza fisiologica. Parto a termine, spontaneo eutocico.	Non sofferenza perinatale.	Ritardo dello sviluppo psicomotorio, prevalente nella componente linguistico-comunicativa.	Non noti	Non riportati	Nonni paterni consanguinei Madre: episodi di restringimento della coscienza in età adolescenziale, di ndd.
FAMIGLIA 15						
Rare_72	Gravidanza fisiologica. Parto a termine spontaneo eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Regolare lo SPM.	P 2,740 Kg (50°P) L 48 cm (10°P) CC 33,5 cm (10°P)	P 72,1 kg (90°P) H 156 cm (25°P) CC 55,3 cm (50°P)	Madre: portatrice di trait Beta Talassemico. Linea materna: cugino di I grado affetto da cardiopatia non meglio precisata, deceduto all'età di 29 anni per complicanza post intervento cardiocirurgico.
Rare_73	Gravidanza fisiologica. Parto a termine spontaneo eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Lieve Ritardo SPM.	P 2,320 Kg (50°P) L 47 cm (<10°P) CC 32,5 cm (<10°P)	P 44,2 kg (>75°P) H 144 cm (50°P) CC 52,3 cm (50°P)	Padre: Hb variante lenta tipo G Philadelphia delle due catene. Linea paterna: zia e cugina di I grado hanno presentato convulsioni febbrili.
FAMIGLIA 16						
Rare_76	Gravidanza monocoriale, biamniotica, decorsa con minaccia d'aborto dal IV mese e di parto prematuro al VI mese. Parto alla 34 [^] sett, spontaneo eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1': 9)	Ritardo dello SPM con acquisizione della deambulazione autonoma a 28 mesi. Linguaggio evoluto in maniera lenta e stantata. Attualmente presenta linguaggio	P 1,770 kg (<25°P) L 43 cm (25°P) CC 29 cm (10°P)	P 51,8 kg (25°P) H156 cm (<10°P) CC50,5 cm (<3°P)	Ndr

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"

Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

Rare_77			inintelligibile.			
		Sofferenza neonatale e ricovero per prematurità, distress respiratorio. Durante il ricovero crisi ipoglicemiche e acidosi respiratoria.	Ritardo dello SPM con acquisizione della deambulazione autonoma a 28 mesi. Linguaggio evoluto in maniera lenta e stantata. Attualmente presenta linguaggio inintelligibile.	P 1,770 kg (<25°P) L 42 cm (>10°P) CC 28,5 cm (10°P)	P 49,5 kg (<50°P) H 155 cm (10°P) CC 50,5 cm (<3°P)	
FAMIGLIA 18						
Rare_85	Minaccia di parto premature dal 6 [^] mese. Parto con TC d'elezione per presentazione podalica.	Non sofferenza perinatale.	SPM regolare, ma deficitario il linguaggio pragmatico ed il patrimonio lessicale.	P 2,950 kg (50°P) L 47 cm (10°P) CC 33 cm (2°P)	P 88 kg (90°P) H 162cm (25°P) CC 50 cm (<3°P)	Madre: diabete mellito tipo II. Linea paterna: familiarità per patologie psichiatriche (disturbo depressivo, mutismo selettivo, fobia sociale, immaturità affettivo-relazionale; Disturbo dello Spettro autistico; ritardo mentale).
Rare_86	Minaccia d'aborto dal 2 [^] mese, placenta pervia. Parto alla 38 [^] sett. spontaneo, distocico per presenza di giri di funicolo intorno al collo.	Sofferenza fetale. Alla nascita riscontro di liquido amniotico tinto, difficoltà respiratorie e pianto flebile. Ricoverato in TIN per distress respiratorio. Riscontro di edema cerebrale diffuso ed ipercogenicità ventricolare.	Ritardo dello SPM, in particolare nello sviluppo delle abilità comunicazionali.	P 3 kg (>10°P) L 49 cm (>25°P) CC 32,5 cm (>5°P)	P 46,3 kg (75°P) H 145 cm (25°P) CC 52 cm (>50°P)	
FAMIGLIA 21						
Rare_94	Assunzione di antispastico per infiammazione appendice. Parto alla 40 [^] sett. indotto farmacologicamente, eutocico.	Non sofferenza perinatale (APGAR al 1':9). Riscontro di palatoschisi corretta chirurgicamente a 4 mesi.	Regolare sviluppo motorio. Ritardo nello sviluppo del linguaggio.	Non noti	P 46 kg (25°P) H 150 cm (5°P) CC 54,5 cm (50°P)	
Rare_96	Minaccia d'aborto al 4 [^] mese. Parto spontaneo alla 39 [^] sett.	APGAR al 1':4, al 5':8. Ipotonia e ipoglicemia transitoria alla nascita. Palatoschisi corretta chirurgicamente. Piede torto congenito bilaterale	Regolare SPM.	P 3,395 kg (50°P) L 49 cm (50°P) CC 35 cm (50°P)	P 105 kg (>99°P) H 158 cm (50°P) CC 59,5 cm (>98°P)	
FAMIGLIA 22						
Rare_100	Gestosi e diabete gestazionale per tutta la durata della gravidanza. Eseguita amniocentesi per riscontro di alto rischio trisomia 21 alla translucenza nucale, risultata negativa. IUGR sin dalle prime ecografie. Parto alla 32 [^] sett. con TC d'urgenza per preeclampsia e sofferenza fetale.	Sofferenza fetale (APGAR al 1': 1, al 5': 2). Distress respiratorio acuto e riscontro di scompenso cardiaco e anuria da Dotto di Botallo pervio, per cui ha subito intervento cardiocirurgico al primo e al terzo mese. Alimentazione per gavage fino al primo mese.	Ritardo dello sviluppo psicomotorio.	Non riportati	P 11,4 kg (5°P) H 85 cm (<3°P) CC 47,5 cm (>25°P)	Madre: Diabete Mellito tipo II. Obesità, ipertensione arteriosa e cisti pancreatica. Fratello: ritardo SPM e idrocefalo esterno. Linea paterna: 2 cugini di I grado deceduti in epoca neonatale per Sindrome di Opitz-Frias. Familiarità per patologie psichiatriche.

TABELLA B: valutazioni cliniche, strumentali e genetiche eseguite

FAMIGLIA	ESAME NEUROLOGICO	D.I.	D.S.A.	INDAGINI STRUMENTALI	INDAGINI GENETICHE
FAMIGLIA 1					
Rare_01	ndr	DI di grado lieve	DSA (livello 1)	ECG: blocco di branca destro. EEG: alt. elet. su regioni fronto-centrali dei due emisferi, più evidenti a destra. Quadro normalizzatosi nel corso degli anni	Cariotipo standard Indagine FMR1 Indagine MECP2 Fish regioni subtelomeriche Fish cr. 15 (regione P.W.) Array CGH 100 Kb
Rare_02	Strabismo convergente in OS. Impaccio motorio. Ipotonia agli arti di grado lieve.	DI di grado lieve (QIV 65, QIP 80, QIT 70)	DSA (livello 1)	RMN encefalo: megacisterna magna PEV: latenza P100 superiore a SN	Cariotipo standard Indagine FMR1 Indagine MECP2 Fish regioni subtelomeriche Fish cr. 15 Array CGH 100 Kb
Rare_03	Ipotonia agli arti di grado lieve	DI di grado lieve (QIT 53)	DSA (livello 2)	ndr	Cariotipo standard Indagine FMR1 Array CGH 100 Kb
FAMIGLIA 2					
Rare_06	Tetraplegia, discinesia, stereotipie motorie e vocali. Ipotonia del tronco di grado moderato-grave.	DI profondo	NO	RMN: microcrania e microcefalia. Anomalie della fossa cranica posteriore, aumento delle dimensioni della cisterna magna, dello spazio prepontino, dei ventricoli. Anomalie del processo odontoide. Riduzione delle dimensioni di ipotalamo e ipofisi. Displasia corticale temporale e della sostanza bianca sottocorticale insulare sinistra. Fimosi, criptorchidismo. Ipoevoluto. EEG: complessi di PPO nelle regioni temporo-occipitali, prevalenti a sinistra, che aumentano nel sonno, trattato con terapia specifica.	Cariotipo standard FISH regioni subtelomeriche FISH cr. 4 (regione Wolf-Hirchhorn) Indagini molecolari TWIST, FGFR2/FGFR3 Studio della famiglia di geni HOX Array CGH a 75 Kb

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"

Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

FAMIGLIA 3					
Rare_10	Grave disturbo del linguaggio espressivo e recettivo. Buono il linguaggio averbale e gestuale. Disprassia oro-buccale. Adiadococinesia. Paratonia.	DI grave	NO	V. Oculistica: cheratocono ECG: isolata extrasistolia fascicolare.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 Indagine molecolare FOXG1 Array CGH a 100Kb: microduplicazione 16p12.1. estesa circa 501,6 Kb, a segregazione paterna.
Rare_11	Grave disturbo del linguaggio espressivo e recettivo ed agnosia uditiva. Disprassia. Impaccio motorio globale.	DI moderato-grave	NO	EEG: complessi PO e PPO continui nel sonno dall'età di 2 anni e 7 mesi, trattato con terapia specifica	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH cr. 15 (regione Prader Willi-Angelman) Indagine molecolare MECP2 Indagine molecolare FOXG1 Indagine molecolare SCN1A Array CGH a 100Kb: microduplicazione 16p12.1. estesa circa 501,6 Kb, a segregazione paterna.
FAMIGLIA 4					
Rare_14	Ndr	DI lieve-moderato	NO	Aumento delle CPK di ndd EEG: dubbie alterazioni elettriche specifiche anteriori , prevalenti a destra. ETG addome: steatosi epatica, splenomegalia. RMN encefalo: ipoplasia ipofisi, assenza del peduncolo ipofisario, ectopia della neuroipofisi, ampliamento della cisterna sovrassellare. RX gamba DX: fibroma non ossificante.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 Array CGH
Rare_15	Linguaggio disartrico. Motilità ridotta. Ipodiadococinesia. Dismetria. Disprassia ideomotoria. Aposturalità: non mantiene la stazione eretta, non deambula. Ipotonia grave generalizzata. Iperreflessia generalizzata, achillei pollicinici, clono del piede esauribile bilaterale.	DI grave	NO	EGDS: reflusso G-E, ernia jatale. Atresia esofagea, fistola esofago-tracheale. ETG addome: abnorme dilatazione di un'ansa ileale. ECOCCG:Dotto di Botallo pervio. TAC: idrocefalo. Anomalie EEG ABR: ipoacusia bilaterale. Polisonnografia: apnee frequenti RX cranio: ipoplasia massiccio facciale e asimmetria delle orbite per DX>SN)	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH cr.22 Array CGH
FAMIGLIA 5					
Rare_18	Partecipazione all'ambiente assente. Grave compromissione dell'area comunicativa, con assenza di linguaggio. Iperattività	DI profondo	NO	RMN encefalo: nella norma. EEG: alterazioni elevate specifiche diffuse, prevalenti sulle regioni posteriori bilateralmente.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH regioni subtelomeriche

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"

Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

Rare_19	afinalistica. Lesioni multiple da autoaggressività. Ipotrofismo. Mantiene la stazione eretta e deambula autonomamente, ma con andatura pitecoide. Il paziente è istituzionalizzato in Struttura Residenziale.	DI grave	NO	RMN encefalo: asimmetria dei ventricoli laterali per DX>SN. RX colonna: scoliosi ad S italiana.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH cr. 22. Array CGH
FAMIGLIA 15					
Rare_72	Strabismo convergente. Disprassia oro-buccale. Sfumati segni cerebellari e piramidali. Deficit sul versante degli apprendimenti non verbali.	DI moderato (QIT 53)	NO	Ndr	Cariotipo standard Indagine Molecolare FMR1 Array CGH Indagine molecolare COH1 (analisi mutazioni puntiformi COH1, escluso l'esone 51, analisi dup/del gene COH1, esclusi gli esoni 6 e 14).
Rare_73	Strabismo convergente. Disprassia oro-buccale. Ipotonia agli arti di grado moderato.	DI lieve/moderato	NO	Ndr	Cariotipo standard Indagine Molecolare FMR1 Array CGH Indagine molecolare COH1 (analisi mutazioni puntiformi COH1, escluso l'esone 51, analisi dup/del gene COH1, esclusi gli esoni 6 e 14).
FAMIGLIA 16					
Rare_76/77	Linguaggio espressivo caratterizzato da gergolalia, senza alcuna valenza comunicativa. Ipotonia. Ipotrofia. Disprassia oro-buccale. Ipodiodococinesia. Anomalie comportamentali e repentini cambiamenti del tono dell'umore, auto-eteroaggressività, trattati farmacologicamente.	DI grave Leiter Scale: QIT 25 e 55)	DSA (Livello 3)	Ndr	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 Indagine molecolare MECP2 FISH regioni subtelomeriche Array CGH

FAMIGLIA 18					
Rare_85	Difficoltà nell'area della relazione e comunicazione.	DI grave (WAIS: QIT 52, QIV 47, QIP 65)	DSA (Livello 2)	ECG: insufficienza valvolare mitralica. Dermatite seborroica Neurinoma del V nervo cranica di sinistra.	Cariotipo standard: traslocazione apparentemente bilanciata tra un cr. 12 e un cr. 20 (cariotipo: 46,XX, t(12;20)(q24.1?p13?)) Array CGH tra 150-250 kb
Rare_86	Ptosi palpebrale bilaterale. Strabismo divergente in OD, nistagmo nelle direzioni orizzontali di sguardo. Lieve ipotonia. Ipodiodococinesia. Impaccio motorio globale. Difficoltà nell'area della relazione e comunicazione.	DI lieve (WISC III: QIT 78, QIV 79, QIP 80)	DSA (Livello 1)	RMN encefalo: leucomalacia periventricolare con aree gliosiche, prevalenti nei settori posteriori, esiti di sofferenza ischemica perinatale. EEG: alterazioni di grado molto modesto, specifiche, in sede centro-temporale destra, attivate dal sonno.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 Array CGH a 150-250 kb
FAMIGLIA 21					
Rare_94	Quadro neurologico in ordine.	Sviluppo Cognitivo nella norma (WISC-R: QIT 97, QIV 96, QIP 100) Presenta Disturbi Specifici dell'Apprendimento	NO	Rmn Encefalo: nella norma. ABR: nella norma. EEG: ndr	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH cr. 15 (regione Prader-Willi) e test di metilazione.
Rare_96	Strabismo convergente (OD>OS). Ipotonia generalizzata di grado lieve. Impaccio motorio globale, legato in parte alla obesità. Riflessi OT ipoevocabili su tutto l'ambito. Deambulazione autonoma con appoggio in varismo.	DI lieve (WISC-III: QIV74, QIP 72, QIT 70) e Disturbi Aspecifici dell'Apprendimento	NO	RMN Encefalo: ampliamento della cisterna magna e del sistema ventricolare. Aree di eterotopia corticale nodulare subependimale. Corpo calloso di aspetto ondulato. RMN regione ipotalamo-ipofisaria: riduzione delle dimensioni della adenoipofisi ed ipointensità di segnale della neuroipofisi, associata a scarsa impregnazione contrastografica del peduncolo ipofisario. ETG addome: epatomegalia e steatosi epatica.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 FISH cr. 15 (regione Prader-Willi) e test di metilazione. FISH regioni subtelomeriche FISH della regione Xq12-13 e della regione Xq27-28 FISH 6q27 Analisi del gene FLNA
FAMIGLIA 22					
Rare_100	Linguaggio strutturato, ma scarsamente adeguato al contesto. Lieve ipotonia	DI moderato (QIT 53)	DSA (livello 2)	ECOCG: dotto di Botallo pervio (corretto chirurgicamente alla nascita). Difetto del setto interatriale tipo Ostium Secundum. Stenosi polmonare residua di lieve entità. Coloboma retinico e irideo. Ritardo di eruzione dentaria e anomalia di forma degli elementi II e III a sinistra. Iposomia RX mani e piedi: deviazione degli assi falangei RX bacino: lieve rotazione del bacino.	Cariotipo standard Indagine molecolare FMR1 e CREBBP Indagine molecolare CHD7 (Sindrome CHARGE). Indagine molec. PTPN11, SOS1, KRAS, SHOC2, MEK1, MEK2. Nel gene RAF1 rilevata trasversione c.281 G>T in eterozigosi nell'esone 7 (RefSeq NM_002880.3). La trasversione determina la sostituzione aminoacidica missenso p.Ser274Ile, presente nella madre.

Dott.ssa Chiara Perria

"Whole Exome Sequencing in Neurodevelopmental Disorders: study of 10 families of Sardinian origin"

Tesi di Dottorato in Fisiologia, Morfologia e Fisiopatologia del Sistema Nervoso Centrale

Università degli Studi di Sassari

ALLEGATO 3

Schede Phenomizer dei soggetti coinvolti nello studio

1 Patient data **Rare_01**

Name, Firstname: Date of birth: Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Long philtrum (HP:0000343)
- Protruding ear (HP:0000411)
- Enlarged naris (HP:0009931)
- Slender build (HP:0001533)
- Mild receptive language delay (HP:0011350)
- Heart block (HP:0012722)
- Micrognathia (HP:0000347)
- Mild expressive language delay (HP:0011346)
- Hypertelorism (HP:0000316)
- Intellectual disability, mild (HP:0001256)
- Autistic behavior (HP:0000729)
- Synophrys (HP:0000664)
- Tapered finger (HP:0001182)
- Prominent fingertip pads (HP:0001212)
- Dolichocephaly (HP:0000268)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0019	2.6191	%614407 MICROCEPHALY, CEREBELLAR HYPOPLASIA, AND CARDIAC CONDUCTION DEFECTSYNDROME; MCHCCD;;ZAKI-GLEESON SYNDROME (OMIM:614407)	
0.0019	2.5585	MARFANOID MENTAL RETARDATION SYNDROME, AUTOSOMAL (OMIM:248770)	
0.0019	1.9629	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0019	1.9005	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1
0.0019	1.7633	%613606 FORSYTHE-WAKELING SYNDROME; FWS;;MICROCEPHALY AND GROWTH RETARDATION WITH CHILDHOOD-ONSET NEPHROTICSYNDROME AND THROMBOCYTOPENIA (OMIM:613606)	
0.0019	1.2621	#614728 SECKEL SYNDROME 6; SCKL6 (OMIM:614728)	CEP63
0.0019	0.6151	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 2 (OMIM:607417)	CRBN
0.0034	1.3009	#615071 ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTELLECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)	LARP7
0.0061	2.0194	#103050 ADENYLOSUCCINASE DEFICIENCY;;ADENYLOSUCCINATE LYASE DEFICIENCY;;ADSL DEFICIENCY (OMIM:103050)	ADSL
0.0082	1.5091	#608716 MICROCEPHALY 5, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH5 (OMIM:608716)	ASPM

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
%614407	MICROCEPHALY, CEREBELLAR HYPOPLASIA, AND CARDIAC CONDUCTION DEFECTSYNDROME; MCHCCD;;ZAKI-GLEESON SYNDROME (OMIM:614407)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

*OMIM en- Features
try*

MARFANOID MENTAL RETARDATION SYNDROME, AUTOSOMAL
(OMIM:248770)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39
(OMIM:615541)

#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15
(OMIM:614202)

%613606 FORSYTHE-WAKELING SYNDROME; FWS;;MICROCEPHALY AND
GROWTH RETARDATION WITH CHILDHOOD-ONSET NEPHROTICSYN-
DROME AND THROMBOCYTOPENIA (OMIM:613606)

#614728 SECKEL SYNDROME 6; SCKL6 (OMIM:614728)

MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 2 (OMIM:607417)

#615071 ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTEL-
LECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)

#103050 ADENYLOSUCCINASE DEFICIENCY;;ADENYLOSUCCINATE LYASE
DEFICIENCY;;ADSL DEFICIENCY (OMIM:103050)

#608716 MICROCEPHALY 5, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH5
(OMIM:608716)

Abnormality of the ear:

- Hearing impairment (HP:0000365)

Abnormality of the nervous system:

- Small cerebral cortex (HP:0002472)
 - Cortical dysplasia (HP:0002539)
 - Attention deficit hyperactivity disorder (HP:0007018)
 - Motor delay (HP:0001270)
 - Ventriculomegaly (HP:0002119)
 - Agenesis of corpus callosum (HP:0001274)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_02**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Protruding ear (HP:0000411)
- Thick hair (HP:0100874)
- Enlarged naris (HP:0009931)
- Dental crowding (HP:0000678)
- Clumsiness (HP:0002312)
- Long eyelashes (HP:0000527)
- Micrognathia (HP:0000347)
- Mild expressive language delay (HP:0011346)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Intellectual disability, mild (HP:0001256)
- Cupped ear (HP:0000378)
- Generalized hypotonia (HP:0001290)
- Scapular winging (HP:0003691)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Pectus excavatum (HP:0000767)
- High palate (HP:0000218)
- Ligamentous laxity (HP:0001380)
- Strabismus (HP:0000486)
- Tapered finger (HP:0001182)
- Dolichocephaly (HP:0000268)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0012	2.5685	249630 MENTAL RETARDATION, BUENOS AIRES TYPE;;MUTCHINICK SYNDROME (OMIM:249630)	
0.0012	2.3117	#614856 OSTEOGENESIS IMPERFECTA, TYPE XIII; OI13;;OI, TYPE XIII (OMIM:614856)	BMP1
0.0012	2.2765	#614132 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)	
0.0012	2.1293	RADIOULNAR SYNOSTOSIS, UNILATERAL, WITH DEVELOPMENTAL RETARDATION AND HYPOTONIA (OMIM:266255)	
0.0012	2.0812	#615539 EHLERS-DANLOS SYNDROME, MUSCULOCONTRACTURAL TYPE 2; EDSCMC2 (OMIM:615539)	DSE
0.0012	1.9658	#613610 CRANIOECTODERMAL DYSPLASIA 2; CED2 (OMIM:613610)	WDR35
0.0012	1.9220	#234050 TRICHOThIODYSTROPHY, NONPHOTOSENSITIVE 1; TTDN1;;AMISH BRITTLE HAIR BRAIN SYNDROME; ABHS;;HAIR-BRAIN SYNDROME;;BIDS SYNDROME;;TRICHORRHEXIS NODOSA SYNDROME;;POLLITT SYNDROME;;TRICHOThIODYSTROPHY-NEUROCUTANEOUS SYNDROME (OMIM:234050)	MPLKIP
0.0012	1.7593	ADRENOLEUKODYSTROPHY, AUTOSOMAL NEONATAL FORM (OMIM:202370)	PEX5
0.0012	1.7107	CEREBELLAR ATROPHY WITH PROGRESSIVE MICROCEPHALY (OMIM:608027)	
0.0012	1.6852	#613456 FRONTONASAL DYSPLASIA 3; FND3 (OMIM:613456)	ALX1

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

*OMIM en- Features
try*

249630 MENTAL RETARDATION, BUENOS AIRES TYPE;;MUTCHINICK SYNDROME (OMIM:249630)

#614856 OSTEOGENESIS IMPERFECTA, TYPE XIII; OI13;;OI, TYPE XIII (OMIM:614856)

#614132 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)

RADIOULNAR SYNOSTOSIS, UNILATERAL, WITH DEVELOPMENTAL RETARDATIONAND HYPOTONIA (OMIM:266255)

#615539 EHLERS-DANLOS SYNDROME, MUSCULOCONTRACTURAL TYPE 2; EDSMC2 (OMIM:615539)

#613610 CRANIOECTODERMAL DYSPLASIA 2; CED2 (OMIM:613610)

#234050 TRICHOTHIODYSTROPHY, NONPHOTOSENSITIVE 1; TTDN1;;AMISH BRITTLE HAIR BRAIN SYNDROME; ABHS;;HAIR-BRAIN SYNDROME;;BIDS SYNDROME;;TRICHORRHEXIS NODOSA SYNDROME;;POLLITT SYNDROME;;TRICHOTHIODYSTROPHY-NEUROCUTANEOUS SYNDROME (OMIM:234050)

ADRENOLEUKODYSTROPHY, AUTOSOMAL NEONATAL FORM (OMIM:202370)

CEREBELLAR ATROPHY WITH PROGRESSIVE MICROCEPHALY (OMIM:608027)

#613456 FRONTONASAL DYSPLASIA 3; FND3 (OMIM:613456)

Abnormality of head or neck:

- Sparse eyelashes (HP:0000653)
- Facial cleft (HP:0002006)
- Absent eyebrow (HP:0002223)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- Prominent glabella (HP:0002057)
- Microphthalmos (HP:0000568)
- Upper eyelid coloboma (HP:0000636)

Abnormality of the ear:

- Low-set, posteriorly rotated ears (HP:0000368)

Abnormality of the eye:

- Microphthalmos (HP:0000568)
- Upper eyelid coloboma (HP:0000636)

Abnormality of the integument:

- Sparse eyelashes (HP:0000653)
 - Absent eyebrow (HP:0002223)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_03**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Protruding ear (HP:0000411)
- Delayed speech and language development (HP:0000750)
- Dental crowding (HP:0000678)
- Clumsiness (HP:0002312)
- Micrognathia (HP:0000347)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Generalized hypotonia (HP:0001290)
- Scapular winging (HP:0003691)
- Prominent metopic ridge (HP:0005487)
- Concave nasal ridge (HP:0011120)
- Pectus excavatum (HP:0000767)
- Tapered finger (HP:0001182)
- Autism (HP:0000717)
- Thick hair (HP:0100874)
- Enlarged naris (HP:0009931)
- Long eyelashes (HP:0000527)
- Intellectual disability, mild (HP:0001256)
- Cupped ear (HP:0000378)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Ligamentous laxity (HP:0001380)
- Hypermetropia (HP:0000540)
- Strabismus (HP:0000486)
- Broad columella (HP:0010761)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0019	2.5154	#218340 TEMTAMY SYNDROME; TEMTYS;;MENTAL RETARDATION WITH OR WITHOUT CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, OCULARCOLOBOMA, OR ABNORMAL CORPUS CALLOSUM (OMIM:218340)	C12ORF57
0.0019	2.3611	#219150 CUTIS LAXA, AUTOSOMAL RECESSIVE, TYPE IIIA; ARCL3A;;DE BARSY SYNDROME A;;CUTIS LAXA, CORNEAL CLOUDING, AND MENTAL RETARDATION;;PROGEROID SYNDROME OF DE BARSY (OMIM:219150)	ALDH18A1
0.0019	2.3222	#614132 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)	
0.0019	2.1181	612948 STARGARDT MACULAR DEGENERATION, ABSENT OR HYPOPLASTIC CORPUS CALLOSUM,MENTAL RETARDATION, AND DYSMORPHIC FEATURES (OMIM:612948)	
0.0019	1.9010	#103050 ADENYLOSUCCINASE DEFICIENCY;;ADENYLOSUCCINATE LYASE DEFICIENCY;;ADSL DEFICIENCY (OMIM:103050)	ADSL
0.0019	1.5841	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0019	1.5460	#613456 FRONTONASAL DYSPLASIA 3; FND3 (OMIM:613456)	ALX1
0.0034	2.2430	#219200 CUTIS LAXA, AUTOSOMAL RECESSIVE, TYPE IIA; ARCL2A;;ARCL2;;CUTIS LAXA WITH CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION;;CUTIS LAXA WITH GROWTH AND DEVELOPMENTAL DELAY;;CUTIS LAXA, DEBRE TYPE;;CUTIS LAXA WITH BONE DYSTROPHY;;CUTIS LAXA WITH JOINT LAXITY AND RETARDED DEVELOPMENT (OMIM:219200)	ATP6V0A2
0.0057	2.5687	%249310 MEGALOCORNEA-MENTAL RETARDATION SYNDROME;;MMR SYNDROME;;NEUHAUSER SYNDROME (OMIM:249310)	
0.0057	2.5225	249630 MENTAL RETARDATION, BUENOS AIRES TYPE;;MUTCHINICK SYNDROME (OMIM:249630)	

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

OMIM entry	Features
#218340	TEMTAMY SYNDROME; TEMTYS;;MENTAL RETARDATION WITH OR WITHOUT CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, OCULARCOLOBOMA, OR ABNORMAL CORPUS CALLOSUM (OMIM:218340)
#219150	CUTIS LAXA, AUTOSOMAL RECESSIVE, TYPE IIIA; ARCL3A;;DE BARSY SYNDROME A;;CUTIS LAXA, CORNEAL CLOUDING, AND MENTAL RETARDATION;;PROGEROID SYNDROME OF DE BARSY (OMIM:219150)
#614132	CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)
612948	STARGARDT MACULAR DEGENERATION, ABSENT OR HYPOPLASTIC CORPUS CALLOSUM,MENTAL RETARDATION, AND DYSMORPHIC FEATURES (OMIM:612948)
#103050	ADENYLOSUCCINASE DEFICIENCY;;ADENYLOSUCCINATE LYASE DEFICIENCY;;ADSL DEFICIENCY (OMIM:103050)
#615541	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)
#613456	FRONTONASAL DYSPLASIA 3; FND3 (OMIM:613456)
#219200	CUTIS LAXA, AUTOSOMAL RECESSIVE, TYPE IIA; ARCL2A;;ARCL2;;CUTIS LAXA WITH CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION;;CUTIS LAXA WITH GROWTH AND DEVELOPMENTAL DELAY;;CUTIS LAXA, DEBRE TYPE;;CUTIS LAXA WITH BONE DYSTROPHY;;CUTIS LAXA WITH JOINT LAXITY AND RETARDED DEVELOPMENT (OMIM:219200)
%249310	MEGALOCORNEA-MENTAL RETARDATION SYNDROME;;MMR SYNDROME;;NEUHAUSER SYNDROME (OMIM:249310)
249630	MENTAL RETARDATION, BUENOS AIRES TYPE;;MUTCHINICK SYNDROME (OMIM:249630)
	<p>Abnormality of head or neck:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Curly eyelashes (HP:0007665) - Dental malocclusion (HP:0000689) - Mandibular prognathia (HP:0000303) - Narrow forehead (HP:0000341) - High forehead (HP:0000348) - Blepharophimosis (HP:0000581) - Abnormality of dental morphology (HP:0006482) <p>Abnormality of the abdomen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Intrahepatic biliary atresia (HP:0005248) <p>Abnormality of the cardiovascular system:</p>

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry Features

- Defect in the atrial septum (HP:0001631)

Abnormality of the eye:

- Photophobia (HP:0000613)
- Ptosis (HP:0000508)

Abnormality of the genitourinary system:

- Hypospadias (HP:0000047)
- Abnormality of the upper urinary tract (HP:0010935)

Abnormality of the integument:

- Abnormality of the fingernails (HP:0001231)
- Curly eyelashes (HP:0007665)
- Hyperconvex thumb nails (HP:0008407)
- Fine hair (HP:0002213)
- Fair hair (HP:0002286)

Abnormality of the musculature:

- Spastic gait (HP:0002064)

Abnormality of the nervous system:

- Spastic gait (HP:0002064)
- Photophobia (HP:0000613)
- Hydrocephalus (HP:0000238)
- Partial agenesis of the corpus callosum (HP:0001338)

Abnormality of the skeletal system:

- Cuboid-shaped thoracolumbar vertebral bodies (HP:0008425)
 - Mandibular prognathia (HP:0000303)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_06**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender:

Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- 3-4 finger syndactyly (HP:0006097)
- Hypoplasia of teeth (HP:0000685)
- Retrognathia (HP:0000278)
- 2-4 toe cutaneous syndactyly (HP:0005768)
- Generalized seizures (HP:0002197)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Prominent metopic ridge (HP:0005487)
- Radial deviation of the hand (HP:0009486)
- High palate (HP:0000218)
- Cryptorchidism (HP:0000028)
- Absent speech (HP:0001344)
- Thoracic kyphosis (HP:0002942)
- Abnormality of the gingiva (HP:0000168)
- Telecanthus (HP:0000506)
- Dyskinesia (HP:0100660)
- Phimosis (HP:0001741)
- Hip dislocation (HP:0002827)
- Abnormality of brain morphology (HP:0012443)
- Blue sclerae (HP:0000592)
- Sparse eyebrow (HP:0000535)
- Feeding difficulties (HP:0011968)
- Prominent nasal bridge (HP:0000426)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Short palpebral fissure (HP:0012745)
- Abnormality of the ear (HP:0000598)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- Ligamentous laxity (HP:0001380)
- Spastic hemiplegia (HP:0011099)
- Strabismus (HP:0000486)

Reference:

• Severe postnatal growth retardation (HP:0008850)

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0042	2.0883	BLEPHARONASOFACIAL MALFORMATION SYNDROME (OMIM:110050)	
0.0042	2.0653	%300612 BROOKS-WISNIEWSKI-BROWN SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, BROOKS-WISNIEWSKI-BROWN TYPE;MRXSBWB (OMIM:300612)	
0.0042	1.9771	#300831 CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)	NSDHL
0.0042	1.8772	#300749 MENTAL RETARDATION AND MICROCEPHALY WITH PONTINE AND CEREBELLAR HYPOPLASIA;MICPCH;;MICPCH SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NAJM TYPE; MRXSNA (OMIM:300749)	CASK
0.0042	1.7810	#300895 OHDO SYNDROME, X-LINKED; OHDOX;;BLEPHAROPHIMOSIS-MENTAL RETARDATION SYNDROME, MAAT-KIEVIT-BRUNNERTYPE (OMIM:300895)	MED12
0.0042	1.7659	#614541 CHROMOSOME 16Q22 DELETION SYNDROME (OMIM:614541)	
0.0042	1.4043	#300850 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 90; MRX90 (OMIM:300850)	DLG3
0.0042	1.2214	SPEECH DEVELOPMENT, DELAYED, WITH FACIAL ASYMMETRY, STRABISMUS, ANDTRANSVERSE EARLOBE CREASE (OMIM:182875)	
0.0042	1.1186	MAXILLOFACIAL DYSOSTOSIS (OMIM:155000)	
0.0042	1.0915	#300851 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 92; MRX92 (OMIM:300851)	

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
	BLEPHARONASOFACIAL MALFORMATION SYNDROME (OMIM:110050)
%300612	BROOKS-WISNIEWSKI-BROWN SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, BROOKS-WISNIEWSKI-BROWN TYPE;MRXSBWB (OMIM:300612)
#300831	CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)
#300749	MENTAL RETARDATION AND MICROCEPHALY WITH PONTINE AND CEREBELLAR HYPOPLASIA;MICPCH;;MICPCH SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NAJM TYPE; MRXSNA (OMIM:300749)
#300895	OHDO SYNDROME, X-LINKED; OHDOX;;BLEPHAROPHIMOSIS-MENTAL RETARDATION SYNDROME, MAAT-KIEVIT-BRUNNERTYPE (OMIM:300895)
#614541	CHROMOSOME 16Q22 DELETION SYNDROME (OMIM:614541)
#300850	MENTAL RETARDATION, X-LINKED 90; MRX90 (OMIM:300850)
	SPEECH DEVELOPMENT, DELAYED, WITH FACIAL ASYMMETRY, STRABISMUS, ANDTRANSVERSE EARLOBE CREASE (OMIM:182875)
	MAXILLOFACIAL DYSOSTOSIS (OMIM:155000)
#300851	MENTAL RETARDATION, X-LINKED 92; MRX92 (OMIM:300851)
	Abnormality of the eye:
	- Severe Myopia (HP:0011003)
	Abnormality of the genitourinary system:
	- Decreased testicular size (HP:0008734)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_10**

Name, Firstname: Date of birth: Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Autism (HP:0000717)
- Low-set ears (HP:0000369)
- Abnormality of the midface (HP:0000309)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Single transverse palmar crease (HP:0000954)
- Round face (HP:0000311)
- Moderate receptive language delay (HP:0011351)
- Short neck (HP:0000470)
- Short stature (HP:0004322)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Short foot (HP:0001773)
- Truncal obesity (HP:0001956)
- Keratoconus (HP:0000563)
- Synophrys (HP:0000664)
- Severe expressive language delay (HP:0006863)
- Prominent fingertip pads (HP:0001212)
- Short ear (HP:0400005)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0034	2.0887	#610185 CEREBELLAR ATAXIA, MENTAL RETARDATION, AND DYSEQUILIBRIUM SYNDROME2; CAMRQ2;;CEREBELLAR ATAXIA AND MENTAL RETARDATION WITH OR WITHOUT QUADRUPEDALLOCOMOTION 2 (OMIM:610185)	WDR81
0.0034	1.8818	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0034	1.3377	#615071 ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTELLECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)	LARP7
0.0034	1.1098	#614728 SECKEL SYNDROME 6; (OMIM:614728)	SCKL6 CEP63
0.0082	1.6066	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1
0.0091	1.0485	#614673 MICROCEPHALY 8, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH8 (OMIM:614673)	CEP135
0.0117	1.8817	233810 GROWTH RETARDATION, SMALL AND PUFFY HANDS AND FEET, AND ECZEMA (OMIM:233810)	
0.0119	1.3889	#608716 MICROCEPHALY 5, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH5 (OMIM:608716)	ASPM
0.0121	2.1126	248950 MCDONOUGH SYNDROME (OMIM:248950)	
0.0123	1.7069	#614069 IMMUNODEFICIENCY-CENTROMERIC INSTABILITY-FACIAL ANOMALIES SYNDROME2; ICF2 (OMIM:614069)	ZBTB24

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

*OMIM en- Features
try*

#610185 CEREBELLAR ATAXIA, MENTAL RETARDATION, AND DYSE-
QUILIBRIUM SYNDROME2; CAMRQ2;;CEREBELLAR ATAXIA AND MEN-
TAL RETARDATION WITH OR WITHOUT QUADRUPEDALLOCOMOTION 2
(OMIM:610185)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39
(OMIM:615541)

#615071 ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTEL-
LECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)

#614728 SECKEL SYNDROME 6; SCKL6 (OMIM:614728)

#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15
(OMIM:614202)

#614673 MICROCEPHALY 8, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH8
(OMIM:614673)

233810 GROWTH RETARDATION, SMALL AND PUFFY HANDS AND FEET,
AND ECZEMA (OMIM:233810)

#608716 MICROCEPHALY 5, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH5
(OMIM:608716)

248950 MCDONOUGH SYNDROME (OMIM:248950)

#614069 IMMUNODEFICIENCY-CENTROMERIC INSTABILITY-FACIAL
ANOMALIES SYNDROME2; ICF2 (OMIM:614069)

Abnormality of blood and blood-forming tissues:

- Hypogammaglobulinemia (HP:0004313)

Abnormality of head or neck:

- Chronic bronchitis (HP:0004469)
- Depressed nasal bridge (HP:0005280)
- Short nose (HP:0003196)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Anteverted nares (HP:0000463)
- High palate (HP:0000218)
- Short chin (HP:0000331)

Abnormality of metabolism/homeostasis:

- Hypogammaglobulinemia (HP:0004313)

Abnormality of the immune system:

- Chronic bronchitis (HP:0004469)
- Hypogammaglobulinemia (HP:0004313)
- Immunodeficiency (HP:0002721)

Abnormality of the respiratory system:

- Chronic bronchitis (HP:0004469)
 - Pneumonia (HP:0002090)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_11**

Name, Firstname: Date of birth: Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Intellectual disability, moderate (HP:0002342)
- Single transverse palmar crease (HP:0000954)
- Downturned corners of mouth (HP:0002714)
- Moderate receptive language delay (HP:0011351)
- Clumsiness (HP:0002312)
- Long eyelashes (HP:0000527)
- Micrognathia (HP:0000347)
- Generalized seizures (HP:0002197)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Mild short stature (HP:0003502)
- Failure to thrive in infancy (HP:0001531)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Microcephaly (HP:0000252)
- Severe expressive language delay (HP:0006863)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0007	2.0982	#614833 POLYMICROGYRIA WITH SEIZURES; PMGYS (OMIM:614833)	RTTN
0.0007	1.8895	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSO- MAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0007	1.7682	#613192 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)	TRAPPC9
0.0007	1.5644	614037 LEUKOTRIENE C4 SYNTHASE DEFICIENCY;;LTC4 SYNTHASE DEFICIENCY (OMIM:614037)	LTC4S
0.0007	1.5376	#615071 ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTELLECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)	LARP7
0.0007	1.4896	#610951 CEROID LIPOFUSCINOSIS, NEURONAL, 7; CLN7 (OMIM:610951)	MFSD8
0.0007	1.4489	#614728 SECKEL SYNDROME 6; SCKL6 (OMIM:614728)	CEP63
0.0007	1.4296	#615596 CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION, TYPE IW; CDG1W;;CDG IW; CDGIW (OMIM:615596)	STT3A
0.0007	1.2632	#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36 (OMIM:615286)	ADAT3
0.0007	0.8256	DWARFISM, LEVI TYPE (OMIM:127100)	

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#614833	POLYMICROGYRIA WITH SEIZURES; PMGYS (OMIM:614833)
#614202	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)
#613192	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)
614037	LEUKOTRIENE C4 SYNTHASE DEFICIENCY;;LTC4 SYNTHASE DEFICIENCY (OMIM:614037)
#615071	ALAZAMI SYNDROME; ALAZS;;FACIAL DYSMORPHISM, INTELLECTUAL DISABILITY, AND PRIMORDIAL DWARFISM (OMIM:615071)
#610951	CEROID LIPOFUSCINOSIS, NEURONAL, 7; CLN7 (OMIM:610951)
#614728	SECKEL SYNDROME 6; SCKL6 (OMIM:614728)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

*OMIM en- Features
try*

#615596 CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION, TYPE IW;
CDG1W;;CDG IW; CDGIW (OMIM:615596)

#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36
(OMIM:615286)

DWARFISM, LEVI TYPE (OMIM:127100)

Growth abnormality:

- Small for gestational age (HP:0001518)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_14**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender:

Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Narrow forehead (HP:0000341)
- 2-3 toe cutaneous syndactyly (HP:0005709)
- Abnormality of dental enamel (HP:0000682)
- Hammertoe (HP:0001765)
- Anterior pituitary dysgenesis (HP:0010625)
- Short neck (HP:0000470)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Growth hormone deficiency (HP:0000824)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Bilateral single transverse palmar creases (HP:0007598)
- Truncal obesity (HP:0001956)
- Abnormality of upper lip vermillion (HP:0011339)
- Hypotrichosis (HP:0001006)
- Tapered finger (HP:0001182)
- Bifid tragus (HP:0011269)
- Dental malocclusion (HP:0000689)
- Striae distensae (HP:0001065)
- Scoliosis (HP:0002650)
- Ectopic posterior pituitary (HP:0011755)
- Intellectual disability, mild (HP:0001256)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Sparse eyebrow (HP:0000535)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Micropenis (HP:0000054)
- Full cheeks (HP:0000293)
- Elevated serum creatine phosphokinase (HP:0003236)
- Sacral dimple (HP:0000960)
- Trigonocephaly (HP:0000243)

Inheritance: none

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0187	2.7914	#213980 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CF-SMR;;CEREBROFACIOTHORACIC DYSPLASIA (OMIM:213980)	TMCO1
0.0187	2.4931	#309585 WILSON-TURNER X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; WTS;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 6; MRXS6;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH GYNECOMASTIA AND OBESITY (OMIM:309585)	HDAC8
0.0187	1.8428	#615849 PALLISTER-HALL SYNDROME 2; PHS2 (OMIM:615849)	GLI2
0.0187	1.4955	DEAFNESS, SENSORINEURAL, WITH PITUITARY DWARFISM (OMIM:221750)	LHX3
0.0300	0.4847	EPICANTHUS (OMIM:131500)	
0.0374	2.2623	SCHOLTE SYNDROME (OMIM:181515)	
0.0374	2.0267	TRICHOMEGALY WITH MENTAL RETARDATION, DWARFISM, AND PIGMENTARY DEGENERATION (OMIM:275400)	
0.0374	1.4023	#609637 HOLOPROSENCEPHALY 5; HPE5 (OMIM:609637)	ZIC2
0.0416	0.9064	#614253 AMELOGENESIS IMPERFECTA AND GINGIVAL FIBROMATOSIS SYNDROME; AIGFS (OMIM:614253)	
0.0449	2.7185	#613406 CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROMECHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)	

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry Features

#213980 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATION SYNDROME; CFSMR;; CEREBROFACIOTHORACIC DYSPLASIA (OMIM:213980)

#309585 WILSON-TURNER X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; WTS;; MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 6; MRXS6;; MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH GYNecomastia AND OBESITY (OMIM:309585)

#615849 PALLISTER-HALL SYNDROME 2; PHS2 (OMIM:615849)

DEAFNESS, SENSORINEURAL, WITH PITUITARY DWARFISM (OMIM:221750)

EPICANTHUS (OMIM:131500)

SCHOLTE SYNDROME (OMIM:181515)

TRICHOMEGALY WITH MENTAL RETARDATION, DWARFISM, AND PIGMENTARY DEGENERATION (OMIM:275400)

#609637 HOLOPROSENCEPHALY 5; HPE5 (OMIM:609637)

#614253 AMELOGENESIS IMPERFECTA AND GINGIVAL FIBROMATOSIS SYNDROME; AIGFS (OMIM:614253)

#613406 CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROME CHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)

Abnormality of connective tissue:

- Camptodactyly of finger (HP:0100490)
- Congenital diaphragmatic hernia (HP:0000776)
- Camptodactyly of toe (HP:0001836)

Abnormality of head and neck:

- Narrow face (HP:0000275)
- Long face (HP:0000276)
- Microphthalmos (HP:0000568)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Smooth philtrum (HP:0000319)
- Medial flaring of the eyebrow (HP:0010747)
- Long philtrum (HP:0000343)
- Facial asymmetry (HP:0000324)
- Widely spaced teeth (HP:0000687)
- High anterior hairline (HP:0009890)
- Prominent nasal bridge (HP:0000426)
- Wide nasal bridge (HP:0000431)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- Thick lower lip vermilion (HP:0000179)
- Open mouth (HP:0000194)
- Flared nostrils (HP:0000454)

Abnormality of the abdomen:

- Congenital diaphragmatic hernia (HP:0000776)
- Gastrointestinal atresia (HP:0002589)
- Feeding difficulties in infancy (HP:0008872)

Abnormality of the ear:

- External ear malformation (HP:0008572)
 - Cupped ear (HP:0000378)
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry Features

Abnormality of the eye:

- Microphthalmos (HP:0000568)
- Hypermetropia (HP:0000540)
- Iris coloboma (HP:0000612)
- Anisocoria (HP:0009916)

Abnormality of the genitourinary system:

- Hypospadias (HP:0000047)

Abnormality of the immune system:

- Recurrent infections (HP:0002719)

Abnormality of the integument:

- Medial flaring of the eyebrow (HP:0010747)
- Deep plantar creases (HP:0001869)
- Cafe-au-lait spot (HP:0000957)
- High anterior hairline (HP:0009890)

Abnormality of the musculature:

- Camptodactyly of finger (HP:0100490)
- Camptodactyly of toe (HP:0001836)

Abnormality of the nervous system:

- Insomnia (HP:0100785)
- Conspicuously happy disposition (HP:0100024)
- Developmental regression (HP:0002376)
- Dysplastic corpus callosum (HP:0006989)
- Autism (HP:0000717)
- Aggressive behavior (HP:0000718)

Abnormality of the respiratory system:

- Congenital diaphragmatic hernia (HP:0000776)

Abnormality of the skeletal system:

- Camptodactyly of finger (HP:0100490)
 - Short thumb (HP:0009778)
 - Microretrognathia (HP:0000308)
 - Joint laxity (HP:0001388)
 - Clinodactyly (HP:0030084)
 - Camptodactyly of toe (HP:0001836)
 - Finger syndactyly (HP:0006101)
 - Proximal placement of thumb (HP:0009623)
 - Brachydactyly syndrome (HP:0001156)
 - Arachnodactyly (HP:0001166)
 - Radial deviation of finger (HP:0009466)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_15**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Esophageal atresia (HP:0002032)
- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Narrow forehead (HP:0000341)
- Hiatus hernia (HP:0002036)
- Hammertoe (HP:0001765)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Generalized hypotonia (HP:0001290)
- Truncal obesity (HP:0001956)
- Constipation (HP:0002019)
- Facial asymmetry (HP:0000324)
- Gastroesophageal reflux (HP:0002020)
- High palate (HP:0000218)
- Hypotrichosis (HP:0001006)
- Iron deficiency anemia (HP:0001891)
- Babinski sign (HP:0003487)
- Bifid tragus (HP:0011269)
- Hydrocephalus (HP:0000238)
- Chorioretinal dystrophy (HP:0001135)
- Sleep apnea (HP:0010535)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Frontal bossing (HP:0002007)
- Cerebral hemorrhage (HP:0001342)
- Skin dimples (HP:0010781)
- Scoliosis (HP:0002650)
- Potter facies (HP:0002009)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Ventricular septal defect (HP:0001629)
- Full cheeks (HP:0000293)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, suppl 4 (1P1600-0187) October 2009.

- Spastic diplegia (HP:0001264)
- Infantile sensorineural hearing impairment (HP:0008610)
- Submucous cleft hard palate (HP:0000176)
- Speech apraxia (HP:0011098)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0749	2.2716	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4
0.0749	1.9104	#615419 HYPOTONIA, INFANTILE, WITH PSYCHOMOTOR RETARDATION AND CHARACTERISTICFACIES; IHPRF (OMIM:615419)	NALCN
0.0749	0.8292	17Q21.31 RECURRENT MICRODELETION SYNDROME (DECIPHER:57)	
0.0899	2.6109	#309580 MENTAL RETARDATION-HYPOTONIC FACIES SYNDROME, X-LINKED, 1; MRXHF1;;SMITH-FINEMAN-MYERS SYNDROME 1; SFM1;;SFMS;;XLMR-HYPOTONIC FACIES SYNDROME;;CARPENTER-WAZIRI SYNDROME;;CHUDLEY-LOWRY SYNDROME;;JUBERG-MARSIDI SYNDROME; JMS;;HOLMES-GANG SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH GROWTH RETARDATION, DEAFNESS, ANDMICROGENITALISM (OMIM:309580)	ATRX
0.0899	2.1981	218350 CRANIOFACIAL DYSSYNOSTOSIS WITH SHORT STATURE;;BILATERAL LAMBDROID AND SAGITTAL SYNOSTOSIS; BLSS (OMIM:218350)	
0.0899	1.8336	#613454 RETT SYNDROME, CONGENITAL VARIANT (OMIM:613454)	FOXP1
0.0899	1.5821	#615031 SPASTIC PARAPLEGIA 49, AUTOSOMAL RECESSIVE; SPG49 (OMIM:615031)	TECPR2
0.0899	1.4803	#613603 CHROMOSOME 4Q32.1-Q32.2 TRIPLICATION SYNDROME (OMIM:613603)	
0.0899	1.4674	#612292 BIRK-BAREL MENTAL RETARDATION DYSMORPHISM SYNDROME;;BIRK-BAREL SYNDROME;;MENTAL RETARDATION WITH HYPOTONIA AND FACIAL DYSMORPHISM (OMIM:612292)	KCNK9

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0899	1.3618	#609637 HOLOPROSENCEPHALY 5; (OMIM:609637)	HPE5 ZIC2

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#610954	PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)
#615419	HYPOTONIA, INFANTILE, WITH PSYCHOMOTOR RETARDATION AND CHARACTERISTICFACIES; IHPRF (OMIM:615419)
17Q21.31	RECURRENT MICRODELETION SYNDROME (DECIPHER:57)
#309580	MENTAL RETARDATION-HYPOTONIC FACIES SYNDROME, X-LINKED, 1; MRXHF1;;SMITH-FINEMAN-MYERS SYNDROME 1; SFM1;;SFMS;;XLMR-HYPOTONIC FACIES SYNDROME;;CARPENTER-WAZIRI SYNDROME;;CHUDLEY-LOWRY SYNDROME;;JUBERG-MARSIDI SYNDROME; JMS;;HOLMES-GANG SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH GROWTH RETARDATION, DEAFNESS, ANDMICROGENITALISM (OMIM:309580)
218350	CRANIOFACIAL DYSSYNOSTOSIS WITH SHORT STATURE;;BILATERAL LAMBDROID AND SAGITTAL SYNOSTOSIS; BLSS (OMIM:218350)
#613454	RETT SYNDROME, CONGENITAL VARIANT (OMIM:613454)
#615031	SPASTIC PARAPLEGIA 49, AUTOSOMAL RECESSIVE; SPG49 (OMIM:615031)
#613603	CHROMOSOME 4Q32.1-Q32.2 TRIPLICATION SYNDROME (OMIM:613603)
#612292	BIRK-BAREL MENTAL RETARDATION DYSMORPHISM SYNDROME;;BIRK-BAREL SYNDROME;;MENTAL RETARDATION WITH HYPOTONIA AND FACIAL DYSMORPHISM (OMIM:612292)
#609637	HOLOPROSENCEPHALY 5; HPE5 (OMIM:609637)
	Abnormality of head and neck:
	- Synophrys (HP:0000664)
	- Hypotelorism (HP:0000601)
	Abnormality of the eye:
	- Hypotelorism (HP:0000601)
	Abnormality of the integument:

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry *Features*

- Synophrys (HP:0000664)
- Abnormality of the nervous system:**
- Holoprosencephaly (HP:0001360)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_18**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Widely spaced teeth (HP:0000687)
- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Protruding ear (HP:0000411)
- Clubbing (HP:0001217)
- Abnormality of dental enamel (HP:0000682)
- Single transverse palmar crease (HP:0000954)
- Long neck (HP:0000472)
- Preauricular pit (HP:0004467)
- Abnormality of the nares (HP:0005288)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Open mouth (HP:0000194)
- Abnormality of skin pigmentation (HP:0001000)
- Plagiocephaly (HP:0001357)
- Progressive congenital scoliosis (HP:0008458)
- Microdontia (HP:0000691)
- Absent speech (HP:0001344)
- Autism (HP:0000717)
- Seizures (HP:0001250)
- Abnormality of the palate (HP:0000174)
- Facial hyperostosis (HP:0005465)
- Muscle fiber atrophy (HP:0100295)
- Chin dimple (HP:0010751)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Synophrys (HP:0000664)
- Barrel-shaped chest (HP:0001552)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0008	2.7273	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4
0.0008	2.2035	#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)	
0.0008	2.1545	SCARF SYNDROME (OMIM:312830)	
0.0008	2.1403	#105830 ANGELMAN SYNDROME; AS;;HAPPY PUPPET SYNDROME, FORMERLYANGELMAN SYNDROME CHROMOSOME REGION, INCLUDED; ANCR, INCLUDED (OMIM:105830)	CDKL5, MECP2, UBE3A
0.0008	2.1186	#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)	FGF3
0.0008	2.0901	#300143 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 21; MRX21;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 34; MRX34 (OMIM:300143)	IL1RAPL1
0.0008	2.0831	#615433 CHROMOSOME 3Q13.31 DELETION SYNDROME (OMIM:615433)	
0.0008	2.0446	#613443 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 20; MRD20;;MENTAL RETARDATION, STEREOTYPIC MOVEMENTS, EPILEPSY, AND/OR CEREBRALMALFORMATIONS;;CHROMOSOME 5Q14.3 DELETION SYNDROME (OMIM:613443)	MEF2C
0.0008	2.0003	CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)	
0.0008	1.9076	#300831 CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)	NSDHL

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try Features

#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)

#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)

SCARF SYNDROME (OMIM:312830)

#105830 ANGELMAN SYNDROME; AS;;HAPPY PUPPET SYNDROME, FORMERLYANGELMAN SYNDROME CHROMOSOME REGION, INCLUDED; ANCR, INCLUDED (OMIM:105830)

#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)

#300143 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 21; MRX21;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 34; MRX34 (OMIM:300143)

#615433 CHROMOSOME 3Q13.31 DELETION SYNDROME (OMIM:615433)

#613443 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 20; MRD20;;MENTAL RETARDATION, STEREOTYPIC MOVEMENTS, EPILEPSY, AND/OR CEREBRALMALFORMATIONS;;CHROMOSOME 5Q14.3 DELETION SYNDROME (OMIM:613443)

CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)

#300831 CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)

Abnormality of head and neck:

- Narrow face (HP:0000275)
- Retrognathia (HP:0000278)
- Almond-shaped palpebral fissure (HP:0007874)

Abnormality of the musculature:

- Generalized hypotonia (HP:0001290)

Abnormality of the nervous system:

- Irritability (HP:0000737)
- Pachygyria (HP:0001302)
- Polymicrogyria (HP:0002126)

Abnormality of the skeletal system:

- Retrognathia (HP:0000278)
- Abnormal cortical bone morphology (HP:0003103)
- Hyperlordosis (HP:0003307)

Growth abnormality:

- Slender build (HP:0001533)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_19**

Name, Firstname:
Date of birth:
Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Abnormal aggressive, impulsive or violent behavior (HP:0006919)
- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Clubbing (HP:0001217)
- Autism (HP:0000717)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Macrodonia (HP:0001572)
- Abnormality of the cerebral ventricles (HP:0002118)
- Gingival overgrowth (HP:0000212)
- Progressive congenital scoliosis (HP:0008458)
- Toe clinodactyly (HP:0001863)
- Abnormal dermatoglyphics (HP:0007477)
- Hypertrichosis (HP:0000998)
- Prominent nose (HP:0000448)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0075	3.0915	CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION, TYPE IIA (OMIM:212066)	MGAT2

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0075	2.7842	#156200 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 1; MRD1CHROMOSOME 2Q23.1 DELETION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:156200)	MBD5
0.0075	2.6520	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4
0.0075	2.4599	#614132 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)	
0.0075	2.4107	#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)	
0.0075	2.2891	609943 HYPERTRICHOSIS, HYPERKERATOSIS, MENTAL RETARDATION, AND DISTINCTIVE-FACIAL FEATURES (OMIM:609943)	
0.0075	1.9522	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0075	1.8081	#300143 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 21; MRX21;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 34; MRX34 (OMIM:300143)	IL1RAPL1
0.0075	1.7526	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1
0.0075	1.2848	#614673 MICROCEPHALY 8, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH8 (OMIM:614673)	CEP135

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
	CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION, TYPE IIA (OMIM:212066)
#156200	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 1; MRD1CHROMOSOME 2Q23.1 DELETION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:156200)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try Features

#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)

#614132 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;TMCO1 DEFECT SYNDROME (OMIM:614132)

#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)

609943 HYPERTRICHOSIS, HYPERKERATOSIS, MENTAL RETARDATION, AND DISTINCTIVEFACIAL FEATURES (OMIM:609943)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)

#300143 MENTAL RETARDATION, X-LINKED 21; MRX21;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 34; MRX34 (OMIM:300143)

#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)

#614673 MICROCEPHALY 8, PRIMARY, AUTOSOMAL RECESSIVE; MCPH8 (OMIM:614673)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_72**

Name, Firstname: Date of birth: Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Muscular hypotonia (HP:0001252)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Intellectual disability, moderate (HP:0002342)
- Round face (HP:0000311)
- Congenital myopia (HP:0008012)
- Dental crowding (HP:0000678)
- Dysdiadochokinesis (HP:0002075)
- Scoliosis (HP:0002650)
- Macrodontia of permanent maxillary central incisor (HP:0000675)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Acne (HP:0001061)
- Generalized joint laxity (HP:0002761)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Facial hypertrichosis (HP:0002219)
- Autistic behavior (HP:0000729)
- Esotropia (HP:0000565)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Generalized hypertrichosis (HP:0004554)
- Childhood-onset truncal obesity (HP:0008915)
- Widened subarachnoid space (HP:0012704)
- Congenital strabismus (HP:0000487)
- Absence seizures (HP:0002121)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0017	2.2816	600302 FRYNS MACRO-CEPHALY;;MACROCEPHALY WITH SPASTIC PARAPLEGIA AND DISTINCTIVE CRANIOFACIAL APPEARANCE (OMIM:600302)	
0.0017	1.9807	#611091 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 5; MRT5 (OMIM:611091)	NSUN2
0.0017	1.9252	#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)	FGF3
0.0017	1.6352	#613192 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)	TRAPPC9
0.0017	1.5959	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0017	1.2559	#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36 (OMIM:615286)	ADAT3
0.0017	1.2524	204110 AMAUROSIS CONGENITA, CONE-ROD TYPE, WITH CONGENITAL HYPERTRICHOSIS (OMIM:204110)	
0.0017	1.2033	PACHYGYRIA, FRONTOTEMPORAL (OMIM:610279)	
0.0045	1.2012	#613671 MENTAL RETARDATION, ANTERIOR MAXILLARY PROTRUSION, AND STRABISMUS;MRAMS (OMIM:613671)	SOBP
0.0055	1.6348	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry Features

600302 FRYNS MACROCEPHALY;;MACROCEPHALY WITH SPASTIC PARAPLEGIA AND DISTINCTIVE CRANIOFACIAL APPEARANCE (OMIM:600302)

#611091 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 5; MRT5 (OMIM:611091)

#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)

#613192 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)

#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36 (OMIM:615286)

204110 AMAUROSIS CONGENITA, CONE-ROD TYPE, WITH CONGENITAL HYPERTRICHOSIS (OMIM:204110)

PACHYGYRIA, FRONTOTEMPORAL (OMIM:610279)

#613671 MENTAL RETARDATION, ANTERIOR MAXILLARY PROTRUSION, AND STRABISMUS;MRAMS (OMIM:613671)

#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)

Abnormality of head or neck:

- Malar flattening (HP:0000272)
- Long eyebrows (HP:0004523)
- Broad eyebrow (HP:0011229)
- Dolichocephaly (HP:0000268)

Abnormality of the integument:

- Long eyebrows (HP:0004523)
- Broad eyebrow (HP:0011229)

Abnormality of the skeletal system:

- Malar flattening (HP:0000272)
 - Dolichocephaly (HP:0000268)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_73**

Name, Firstname: Date of birth: Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Muscular hypotonia (HP:0001252)
- Microretrognathia (HP:0000308)
- Intellectual disability, moderate (HP:0002342)
- Round face (HP:0000311)
- Congenital myopia (HP:0008012)
- Dental crowding (HP:0000678)
- Dysdiadochokinesis (HP:0002075)
- Scoliosis (HP:0002650)
- Macrodontia of permanent maxillary central incisor (HP:0000675)
- Genu valgum (HP:0002857)
- Acne (HP:0001061)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Facial hypertrichosis (HP:0002219)
- Autistic behavior (HP:0000729)
- Pineal cyst (HP:0012683)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Generalized hypertrichosis (HP:0004554)
- Childhood-onset truncal obesity (HP:0008915)
- Congenital strabismus (HP:0000487)

Inheritance: Autosomal recessive inheritance (HP:0000007)

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0019	2.4025	600302 FRYNS MACROCEPHALY;;MACROCEPHALY WITH SPASTIC PARAPLEGIA AND DISTINCTIVE CRANIOFACIALAPPEARANCE (OMIM:600302)	
0.0019	2.0073	#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)	FGF3
0.0019	1.9634	#611091 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 5; MRT5 (OMIM:611091)	NSUN2
0.0019	1.7124	#613192 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)	TRAPPC9
0.0019	1.7051	#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)	MAN1B1
0.0019	1.6329	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0019	1.3051	204110 AMAUROSIS CONGENITA, CONE-ROD TYPE, WITH CONGENITAL HYPERTRICHOSIS (OMIM:204110)	
0.0034	1.6317	CAHMR SYNDROME (OMIM:211770)	
0.0041	1.1096	#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36 (OMIM:615286)	ADAT3
0.0041	1.0818	#613671 MENTAL RETARDATION, ANTERIOR MAXILLARY PROTRUSION, AND STRABISMUS;MRAMS (OMIM:613671)	SOBP

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
600302	FRYNS MACROCEPHALY;;MACROCEPHALY WITH SPASTIC PARAPLEGIA AND DISTINCTIVE CRANIOFACIALAPPEARANCE (OMIM:600302)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try Features

#610706 DEAFNESS, CONGENITAL, WITH INNER EAR AGENESIS, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS, CONGENITAL, WITH LABYRINTHINE APLASIA, MICROTIA, AND MICRODONTIA;;DEAFNESS WITH LAMM (OMIM:610706)

#611091 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 5; MRT5 (OMIM:611091)

#613192 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 13; MRT13 (OMIM:613192)

#614202 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 15; MRT15 (OMIM:614202)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)

204110 AMAUROSIS CONGENITA, CONE-ROD TYPE, WITH CONGENITAL HYPERTRICHOSIS (OMIM:204110)

CAHMR SYNDROME (OMIM:211770)

#615286 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 36; MRT36 (OMIM:615286)

#613671 MENTAL RETARDATION, ANTERIOR MAXILLARY PROTRUSION, AND STRABISMUS;MRAMS (OMIM:613671)

Abnormality of head or neck:

- Open bite (HP:0010807)

Abnormality of the eye:

- Amblyopia (HP:0000646)

Abnormality of the nervous system:

- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
 - Poor speech (HP:0002465)
 - Short attention span (HP:0000736)
 - Psychosis (HP:0000709)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_76**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Hallux valgus (HP:0001822)
- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Abnormal fear/anxiety-related behavior (HP:0100852)
- Hair-pulling (HP:0012167)
- 2-3 toe cutaneous syndactyly (HP:0005709)
- Autism (HP:0000717)
- Aggressive behavior (HP:0000718)
- Congenital myopia (HP:0008012)
- Slender build (HP:0001533)
- Congenital microcephaly (HP:0011451)
- Muscle fiber atrophy (HP:0100295)
- Abnormality of skin pigmentation (HP:0001000)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Prominent eyelashes (HP:0011231)
- Abdominal obesity (HP:0012743)
- Speech apraxia (HP:0011098)
- Hypertrichosis (HP:0000998)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0011	2.8660	#213980 CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CF-SMR;;CEREBROFACIOTHORACIC DYSPLASIA (OMIM:213980)	TMCO1
0.0011	2.7924	#613406 CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROMECHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)	
0.0011	2.7666	19P13.12 MICRODELETION SYNDROME (ORPHANET:254346)	
0.0011	2.7107	#300860 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NASCIMENTO TYPE; MRXSN;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 30; MRXS30 (OMIM:300860)	UBE2A
0.0011	2.5974	#613457 CHROMOSOME 14Q11-Q22 DELETION SYNDROME (OMIM:613457)	
0.0011	2.5772	#300354 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SHORT STATURE, HYPOGONADISM, ANDABNORMAL GAIT;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 15; MRXS15;;CABEZAS X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; MRXSC;;CABEZAS SYNDROME (OMIM:300354)	CUL4B
0.0011	2.5466	#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)	
0.0011	2.4734	#156200 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 1; MRD1CHROMOSOME 2Q23.1 DELETION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:156200)	MBD5
0.0011	2.4502	#300352 CEREBRAL CREATINE DEFICIENCY SYNDROME 1; CCDS1;;CREATINE DEFICIENCY SYNDROME, X-LINKED;;CREATINE TRANSPORTER DEFECT;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SEIZURES, SHORT STATURE, AND MIDFACEHYPOPLASIA;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH CREATINE TRANSPORT DEFICIENCY (OMIM:300352)	SLC6A8
0.0011	2.4496	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
----------------	--------------	----------------------	--------------------

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#213980	CRANIOFACIAL DYSMORPHISM, SKELETAL ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATIONSYNDROME; CFSMR;;CEREBROFACIOTHORACIC DYSPLASIA (OMIM:213980)
#613406	CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROMECHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)
19P13.12	MICRODELETION SYNDROME (ORPHANET:254346)
#300860	MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NASCIMENTO TYPE; MRXSN;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 30; MRXS30 (OMIM:300860)
#613457	CHROMOSOME 14Q11-Q22 DELETION SYNDROME (OMIM:613457)
#300354	MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SHORT STATURE, HYPOGONADISM, ANDABNORMAL GAIT;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 15; MRXS15;;CABEZAS X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; MRXSC;;CABEZAS SYNDROME (OMIM:300354)
#613509	CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)
#156200	MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 1; MRD1CHROMOSOME 2Q23.1 DELETION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:156200)
#300352	CEREBRAL CREATINE DEFICIENCY SYNDROME 1; CCDS1;;CREATINE DEFICIENCY SYNDROME, X-LINKED;;CREATINE TRANSPORTER DEFECT;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SEIZURES, SHORT STATURE, AND MIDFACEHYPOPLASIA;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH CREATINE TRANSPORT DEFICIENCY (OMIM:300352)
#610954	PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)
	Abnormality of the abdomen:
	- Gastroesophageal reflux (HP:0002020)
	Abnormality of the ear:
	- Thickened helices (HP:0000391)
	Abnormality of the nervous system:
	- Intellectual disability, progressive (HP:0006887)
	Abnormality of the respiratory system:

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
-------------------	-----------------

- Hyperventilation (HP:0002883)
- Apnea (HP:0002104)

Abnormality of the skeletal system:

- Clubbing (HP:0001217)
 - Narrow foot (HP:0001786)
 - Tapered finger (HP:0001182)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_77**

Name, Firstname: Date of birth:

Gender:

Male Female

2 Query

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Hallux valgus (HP:0001822)
- Intellectual disability, severe (HP:0010864)
- Abnormal fear/anxiety-related behavior (HP:0100852)
- Neonatal respiratory distress (HP:0002643)
- Hair-pulling (HP:0012167)
- 2-3 toe cutaneous syndactyly (HP:0005709)
- Autism (HP:0000717)
- Aggressive behavior (HP:0000718)
- Congenital myopia (HP:0008012)
- Slender build (HP:0001533)
- Dysdiadochokinesis (HP:0002075)
- Congenital microcephaly (HP:0011451)
- Muscle fiber atrophy (HP:0100295)
- Respiratory acidosis (HP:0005972)
- Generalized hypotonia (HP:0001290)
- Abnormality of skin pigmentation (HP:0001000)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Prominent eyelashes (HP:0011231)
- Abdominal obesity (HP:0012743)
- Speech apraxia (HP:0011098)
- Hypertrichosis (HP:0000998)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0017	2.3436	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4
0.0017	2.2872	#613509 CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)	
0.0017	2.2815	#300860 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NASCIMENTO TYPE; MRXSN;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 30; MRXS30 (OMIM:300860)	UBE2A
0.0017	2.1512	#300831 CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)	NSDHL
0.0017	2.0178	CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)	
0.0017	2.0034	#256000 LEIGH SYNDROME; LS;;NECROTIZING ENCEPHALOPATHY, INFANTILE SUBACUTE, OF LEIGH; SNELEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX I DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX II DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX III DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX IV DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX V DEFICIENCY, INCLUDED (OMIM:256000)	NDUFS7, NDUFA10, NDUFA9, SDHA, BCS1L, NDUFAF2, SURF1, NDUFA12, NDUFS3, COX15, COX10, NDUFS4, NDUFA2, NDUFS8, FOXRED1, NDUFAF6
0.0017	1.9366	HOLOCARBOXYLASE SYNTHETASE DEFICIENCY (OMIM:253270)	HLCS
0.0017	1.9363	#615824 MITOCHONDRIAL COMPLEX III DEFICIENCY, NUCLEAR TYPE 7; MC3DN7 (OMIM:615824)	UQC2

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0017	1.8327	#300699 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, WU TYPE; MRXSW;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 94; MRX94;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 29; MRXS29 (OMIM:300699)	GRIA3
0.0017	1.7640	#612716 DYSTONIA, DOPA-RESPONSIVE, DUE TO SEPIAPTERIN REDUCTASE DEFICIENCY;;SEPIAPTERIN REDUCTASE DEFICIENCY;;SPR DEFICIENCY (OMIM:612716)	SPR

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#610954	PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)
#613509	CHROMOSOME 4Q21 DELETION SYNDROME (OMIM:613509)
#300860	MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, NASCIMENTO TYPE; MRXSN;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 30; MRXS30 (OMIM:300860)
#300831	CK SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH THIN BODY HABITUS AND CORTICALMALFORMATION (OMIM:300831)
	CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)
#256000	LEIGH SYNDROME; LS;;NECROTIZING ENCEPHALOPATHY, INFANTILE SUBACUTE, OF LEIGH; SNELEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX I DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX II DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX III DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX IV DEFICIENCY, INCLUDED;;LEIGH SYNDROME DUE TO MITOCHONDRIAL COMPLEX V DEFICIENCY, INCLUDED (OMIM:256000)
	HOLOCARBOXYLASE SYNTHETASE DEFICIENCY (OMIM:253270)
#615824	MITOCHONDRIAL COMPLEX III DEFICIENCY, NUCLEAR TYPE 7; MC3DN7 (OMIM:615824)
#300699	MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC, WU TYPE; MRXSW;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 94; MRX94;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 29; MRXS29 (OMIM:300699)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try *Features*

#612716 DYSTONIA, DOPA-RESPONSIVE, DUE TO SEPIAPTERIN REDUCTASE DEFICIENCY;;SEPIAPTERIN REDUCTASE DEFICIENCY;;SPR DEFICIENCY (OMIM:612716)

Abnormality of metabolism/homeostasis:

- Transient hyperphenylalaninemia (HP:0008297)

Abnormality of the eye:

- Oculomotor apraxia (HP:0000657)

Abnormality of the musculature:

- Muscular hypotonia of the trunk (HP:0008936)

Abnormality of the nervous system:

- Choreoathetosis (HP:0001266)
 - Oculomotor apraxia (HP:0000657)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_86**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Protruding ear (HP:0000411)
- Bilateral ptosis (HP:0001488)
- Maxillozygomatic hypoplasia (HP:0005439)
- Dysdiadochokinesis (HP:0002075)
- Clumsiness (HP:0002312)
- Hypoplasia of the corpus callosum (HP:0002079)
- Hypogonadism (HP:0000135)
- Nail dystrophy (HP:0008404)
- Cerebral edema (HP:0002181)
- Neonatal respiratory distress (HP:0002643)
- Unusual dermatoglyphics (HP:0007560)
- Potter facies (HP:0002009)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Autistic behavior (HP:0000729)
- Blue sclerae (HP:0000592)
- Intellectual disability, borderline (HP:0006889)
- Downslanted palpebral fissures (HP:0000494)
- Gynecomastia (HP:0000771)
- Bipolar affective disorder (HP:0007302)
- Horizontal nystagmus (HP:0000666)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- Cutaneous finger syndactyly (HP:0010554)
- Abnormality of the helix (HP:0011039)
- Strabismus (HP:0000486)
- Trigenocephaly (HP:0000243)
- Periventricular leukomalacia (HP:0006970)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0094	1.9222	#615433 CHROMOSOME 3Q13.31 DELETION SYNDROME (OMIM:615433)	
0.0094	1.8219	#300486 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH CEREBELLAR HYPOPLASIA AND DISTINCTIVE FACIAL APPEARANCE;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 60, FORMERLY; MRX60, FORMERLY (OMIM:300486)	OPHN1
0.0094	1.7291	#615829 XIA-GIBBS SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 25; MRD25 (OMIM:615829)	AHDC1
0.0094	1.5337	#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)	TTI2
0.0094	1.4608	#609637 HOLOPROSENCEPHALY 5; HPE5 (OMIM:609637)	ZIC2
0.0094	1.2043	SPEECH DEVELOPMENT, DELAYED, WITH FACIAL ASYMMETRY, STRABISMUS, AND TRANSVERSE EARLOBE CREASE (OMIM:182875)	
0.0094	1.0796	PAROXYSMAL TONIC UPGAZE, BENIGN CHILDHOOD, WITH ATAXIA (OMIM:168885)	
0.0094	0.9964	CEREBRAL PALSY, ATAXIC, AUTOSOMAL RECESSIVE (OMIM:605388)	
0.0115	2.3058	#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)	TCF4
0.0115	2.0128	601853 CEREBELLOTRIGEMINAL DERMAL DYSPLASIA;;GOMEZ-LOPEZ-HERNANDEZ SYNDROME;;GLH SYNDROME;;CEREBELLOTRIGEMINAL-DERMAL DYSPLASIA (OMIM:601853)	

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try *Features*

#615433 CHROMOSOME 3Q13.31 DELETION SYNDROME (OMIM:615433)

#300486 MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH CEREBELLAR HYPOPLASIA AND DISTINCTIVE FACIAL APPEARANCE;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 60, FORMERLY; MRX60, FORMERLY (OMIM:300486)

#615829 XIA-GIBBS SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL DOMINANT 25; MRD25 (OMIM:615829)

#615541 MENTAL RETARDATION, AUTOSOMAL RECESSIVE 39; MRT39 (OMIM:615541)

#609637 HOLOPROSENCEPHALY 5; HPE5 (OMIM:609637)

SPEECH DEVELOPMENT, DELAYED, WITH FACIAL ASYMMETRY, STRABISMUS, AND TRANSVERSE EARLOBE CREASE (OMIM:182875)

PAROXYSMAL TONIC UPGAZE, BENIGN CHILDHOOD, WITH ATAXIA (OMIM:168885)

CEREBRAL PALSY, ATAXIC, AUTOSOMAL RECESSIVE (OMIM:605388)

#610954 PITT-HOPKINS SYNDROME; PTHS;;ENCEPHALOPATHY, SEVERE EPILEPTIC, WITH AUTONOMIC DYSFUNCTION;;MENTAL RETARDATION, SYNDROMAL, WITH INTERMITTENT HYPERVENTILATION (OMIM:610954)

601853 CEREBELLOTRIGEMINAL DERMAL DYSPLASIA;;GOMEZ-LOPEZ-HERNANDEZ SYNDROME;;GLH SYNDROME;;CEREBELLO-TRIGEMINAL-DERMAL DYSPLASIA (OMIM:601853)

Abnormality of head and neck:

- Malar flattening (HP:0000272)
- Skull asymmetry (HP:0002678)
- Craniosynostosis (HP:0001363)
- Turricephaly (HP:0000262)
- Wide anterior fontanel (HP:0000260)
- Short nose (HP:0003196)
- Wormian bones (HP:0002645)
- Telecanthus (HP:0000506)
- Midface retrusion (HP:0011800)
- Smooth philtrum (HP:0000319)
- Mask-like facies (HP:0000298)

Abnormality of the endocrine system:

- Growth hormone deficiency (HP:0000824)

Abnormality of the eye:

- Opacification of the corneal stroma (HP:0007759)
- Visual impairment (HP:0000505)

Abnormality of the integument:

- Abnormality of the toenail (HP:0008388)
- Alopecia (HP:0001596)

Abnormality of the nervous system:

- Impaired pain sensation (HP:0007328)
- Agenesis of cerebellar vermis (HP:0002335)
- Hyperreflexia (HP:0001347)
- Fusion of the cerebellar hemispheres (HP:0006899)
- Cerebellar vermis hypoplasia (HP:0001320)
- Self-injurious behavior (HP:0100716)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
 Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM entry *Features*

Abnormality of the skeletal system:

- Skull asymmetry (HP:0002678)
 - Craniosynostosis (HP:0001363)
 - Turricephaly (HP:0000262)
 - Wide anterior fontanel (HP:0000260)
 - Wormian bones (HP:0002645)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_96**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Pes planus (HP:0001763)
- Protruding ear (HP:0000411)
- Narrow forehead (HP:0000341)
- Psoriasis (HP:0003765)
- Micrognathia (HP:0000347)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Dysplastic patella (HP:0006446)
- Prominent metopic ridge (HP:0005487)
- Concave nasal ridge (HP:0011120)
- Curly eyelashes (HP:0007665)
- Clinodactyly of the 5th finger (HP:0004209)
- Short finger (HP:0009381)
- Low-set ears (HP:0000369)
- Round face (HP:0000311)
- Narrow mouth (HP:0000160)
- Hypertelorism (HP:0000316)
- Intellectual disability, mild (HP:0001256)
- EEG abnormality (HP:0002353)
- Sparse eyebrow (HP:0000535)
- Cleft soft palate (HP:0000185)
- Heterotopia (HP:0002282)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- External genital hypoplasia (HP:0003241)
- Strabismus (HP:0000486)
- Obesity (HP:0001513)

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0013	2.8924	#612513 CHROMOSOME 2P16.1-P15 DELETION SYNDROME (OMIM:612513)	
0.0013	2.5045	#148050 KBG SYNDROME; KBGS;;MACRODONTIA, MENTAL RETARDATION, CHARACTERISTIC FACIES, SHORT STATURE,AND SKELETAL ANOMALIES (OMIM:148050)	ANKRD11
0.0013	2.4508	#614230 CHROMOSOME 8Q21.11 DELETION SYNDROME (OMIM:614230)	
0.0013	2.2047	SUMMITT SYNDROME (OMIM:272350)	
0.0013	2.1850	%605627 CEREBROOCULONASAL SYNDROME (OMIM:605627)	
0.0013	2.1208	TRIGONOCEPHALY WITH SHORT STATURE AND DEVELOPMENTAL DELAY (OMIM:314320)	
0.0013	2.1085	6Q16 DELETION SYNDROME (ORPHANET:171829)	
0.0013	2.0062	CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)	
0.0013	1.9957	#613174 CHROMOSOME 5P13 DUPLICATION SYNDROME (OMIM:613174)	
0.0013	1.9782	608624 MIDFACE HYPOPLASIA, OBESITY, DEVELOPMENTAL DELAY, AND NEONATAL HYPOTONIA (OMIM:608624)	

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#612513 CHROMOSOME 2P16.1-P15 DELETION SYNDROME (OMIM:612513)	
#148050 KBG SYNDROME; KBGS;;MACRODONTIA, MENTAL RETARDATION, CHARACTERISTIC FACIES, SHORT STATURE,AND SKELETAL ANOMALIES (OMIM:148050)	
#614230 CHROMOSOME 8Q21.11 DELETION SYNDROME (OMIM:614230)	
SUMMITT SYNDROME (OMIM:272350)	

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

OMIM en-try *Features*

%605627 CEREBROOCULONASAL SYNDROME (OMIM:605627)

TRIGONOCEPHALY WITH SHORT STATURE AND DEVELOPMENTAL DELAY (OMIM:314320)

6Q16 DELETION SYNDROME (ORPHANET:171829)

CHROMOSOME 15Q13.3 MICRODELETION SYNDROME (OMIM:612001)

#613174 CHROMOSOME 5P13 DUPLICATION SYNDROME (OMIM:613174)

608624 MIDFACE HYPOPLASIA, OBESITY, DEVELOPMENTAL DELAY, AND NEONATAL HYPOTONIA (OMIM:608624)

Abnormality of head and neck:

- Midface retrusion (HP:0011800)
- Broad lateral eyebrow (HP:0007933)
- Thick lower lip vermilion (HP:0000179)

Abnormality of metabolism/homeostasis:

- Hypoglycemia (HP:0001943)

Abnormality of the ear:

- Mixed hearing impairment (HP:0000410)
- Microtia (HP:0008551)
- Overfolded helix (HP:0000396)

Abnormality of the integument:

- Broad lateral eyebrow (HP:0007933)

Abnormality of the musculature:

- Neonatal hypotonia (HP:0001319)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

1 Patient data **Rare_100**

Name, Firstname:

Date of birth:

Gender: Male Female

2 Query

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Query Terms:

- Bulbous nose (HP:0000414)
- Iris coloboma (HP:0000612)
- High anterior hairline (HP:0009890)
- Telangiectasia (HP:0001009)
- High forehead (HP:0000348)
- Epicanthus (HP:0000286)
- Triangular face (HP:0000325)
- Bilateral retinal coloboma (HP:0007808)
- Short philtrum (HP:0000322)
- Curly eyelashes (HP:0007665)
- Pectus excavatum (HP:0000767)
- Diastema (HP:0000699)
- Thick eyebrow (HP:0000574)
- High posterior hairline (HP:0012891)
- Dental malocclusion (HP:0000689)
- Short phalanx of finger (HP:0009803)
- Abnormality of the cardiac septa (HP:0001671)
- Pointed chin (HP:0000307)
- Thin vermilion border (HP:0000233)
- Global developmental delay (HP:0001263)
- Advanced eruption of teeth (HP:0006288)
- Autistic behavior (HP:0000729)
- Redundant skin on fingers (HP:0007516)
- Posteriorly rotated ears (HP:0000358)
- Synophrys (HP:0000664)
- Highly arched eyebrow (HP:0002553)
- Long upper eyelashes (HP:0007840)
- Underdeveloped nasal alae (HP:0000430)
- Ligamentous laxity (HP:0001380)

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

Inheritance: none

Similarity measure: Resnik (not symmetric)

3 Results

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0003	2.8896	#613406 CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROME; CHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)	
0.0003	2.6717	#148050 KBG SYNDROME; KBGS;;MACRODONTIA, MENTAL RETARDATION, CHARACTERISTIC FACIES, SHORT STATURE, AND SKELETAL ANOMALIES (OMIM:148050)	ANKRD11
0.0003	2.6392	#309500 RENPENNING SYNDROME 1; RENS1;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, RENPENNING TYPE;;SUTHERLAND-HAAN X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; SHS;;GOLABI-ITO-HALL SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SPASTIC DIPLEGIA;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 3; MRXS3;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 8; MRXS8;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 55; MRX55 (OMIM:309500)	PQBP1
0.0003	2.5153	AARSKOG-SCOTT SYNDROME (ORPHANET:915)	
0.0003	2.5083	%145420 HYPERTELORISM, TEEBI TYPE;;BRACHYCEPHALOFRONTONASAL DYSPLASIA (OMIM:145420)	
0.0003	2.5052	16Q24.3 MICRODELETION SYNDROME (ORPHANET:261250)	
0.0003	2.4920	%227330 FACIODIGITOGENITAL SYNDROME, AUTOSOMAL RECESSIVE;;AARSKOG-LIKE SYNDROME;;KUWAIT TYPE FACIODIGITOGENITAL SYNDROME (OMIM:227330)	
0.0003	2.4215	#609460 GOLDBERG-SHPRINTZEN SYNDROME; GOSHS;;GOLDBERG-SHPRINTZEN MEGACOLON SYNDROME (OMIM:609460)	KIAA1279
0.0003	2.3937	BARAITSER-WINTER SYNDROME (ORPHANET:2995)	

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN. Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies. *The American Journal of Human Genetics* 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>p-Value</i>	<i>Score</i>	<i>Disease entry</i>	<i>Known Genes</i>
0.0003	2.3671	248950 MCDONOUGH SYNDROME (OMIM:248950)	

4 Further analysis

(Shown is a list of features that are special to the corresponding OMIM entry and not shared by another OMIM entry from the result list.)

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
#613406	CHROMOSOME 15Q24 DELETION SYNDROME CHROMOSOME 15Q24 DUPLICATION SYNDROME, INCLUDED (OMIM:613406)
#148050	KBG SYNDROME; KBGS;;MACRODONTIA, MENTAL RETARDATION, CHARACTERISTIC FACIES, SHORT STATURE, AND SKELETAL ANOMALIES (OMIM:148050)
#309500	RENPENNING SYNDROME 1; RENS1;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, RENPENNING TYPE;;SUTHERLAND-HAAN X-LINKED MENTAL RETARDATION SYNDROME; SHS;;GOLABI-ITO-HALL SYNDROME;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH SPASTIC DIPLEGIA;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 3; MRXS3;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED, SYNDROMIC 8; MRXS8;;MENTAL RETARDATION, X-LINKED 55; MRX55 (OMIM:309500)
	AARSKOG-SCOTT SYNDROME (ORPHANET:915)
%145420	HYPERTELORISM, TEEBI TYPE;;BRACHYCEPHALOFRONTONASAL DYSPLASIA (OMIM:145420)
16Q24.3	MICRODELETION SYNDROME (ORPHANET:261250)
%227330	FACIODIGITOGENITAL SYNDROME, AUTOSOMAL RECESSIVE;;AARSKOG-LIKE SYNDROME;;KUWAIT TYPE FACIODIGITOGENITAL SYNDROME (OMIM:227330)
#609460	GOLDBERG-SHPRINTZEN SYNDROME; GOSHS;;GOLDBERG-SHPRINTZEN MEGACOLON SYNDROME (OMIM:609460)
	BARAITSER-WINTER SYNDROME (ORPHANET:2995)
248950	MCDONOUGH SYNDROME (OMIM:248950)
	Abnormality of head and neck:
	- Prominent supraorbital ridges (HP:0000336)
	- Prominent nose (HP:0000448)
	- Blepharophimosis (HP:0000581)
	Abnormality of the abdomen:
	- Aplasia/Hypoplasia of the abdominal wall musculature (HP:0010318)
	- Diastasis recti (HP:0001540)
	Abnormality of the cardiovascular system:

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

<i>OMIM entry</i>	<i>Features</i>
-------------------	-----------------

- Pulmonic stenosis (HP:0001642)
- Aortic valve stenosis (HP:0001650)

Abnormality of the integument:

- Hypoplastic toenails (HP:0001800)

Abnormality of the skeletal system:

- Kyphoscoliosis (HP:0002751)
 - Pectus carinatum (HP:0000768)
-
-

Reference:

Köhler S, Schulz MH, Krawitz P, Bauer S, Dölken S, Ott CE, Mundlos C, Horn D, Mundlos S, Robinson PN
Clinical Diagnostics in Human Genetics with Semantic Similarity Searches in Ontologies
The American Journal of Human Genetics 85, pp. 457-464, Oktober 2009.

BIBLIOGRAFIA

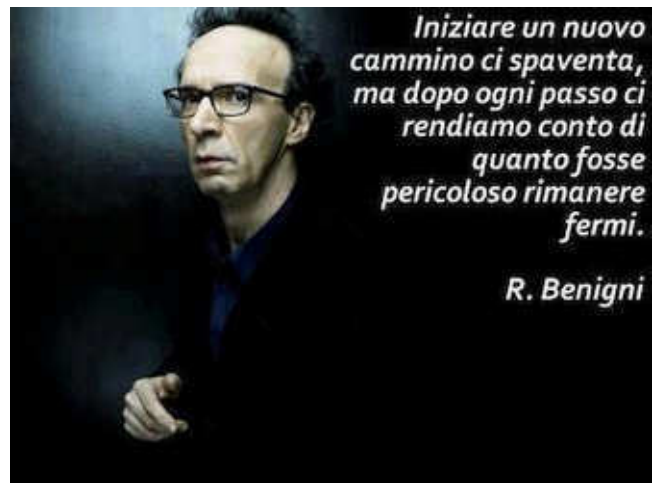
- Abrahams BS, Geschwind DH: Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet* 2008; 9: 341–55.
- Baird G, Simonoff E, Pickles A et Al.: Prevalence of disorders of the autistic spectrum in a population cohort of children in South Thames: the special needs and autism project (SNAP). *Lancet* 2006; 368: 210-5.
- Battaglia A, Doccini V, Bernardini L et Al.: Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individual with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *Eu J Paed Neurol* 2013; online.
- Battaglia A, Hoyme HE, Dallapiccola B et Al.: Further delineation of deletion 1p36 syndrome in 60 patients: a recognizable phenotype and common cause of developmental delay and mental retardation. *Pediatrics* 2008; 121: 404-10.
- Battaglia A: The inv/dup (15) or idic (15) syndrome (Tetrasomy 15q). *Orphanet J Rare Dis.* 2008; 19: 3-30.
- Berdasco M, Esteller M: Genetic syndromes caused by mutations in epigenetic genes. *Hum genet* 2013; 132: 359-83.
- Betancour C: Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: more than 100 genetic and genomic disorders and still counting. *Brain Res* 2011; 1380: 42-77
- Brunetti-Pierri N, Berg JS, Scaglia F et Al.: Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities. *Nat. Genet.* 2008; 40: 1466–71.
- Carey (Am J Med Genet 2009). *Elements of Morphology: standard terminology*”
- Crino PB. mTOR: A pathogenic signaling pathway in developmental brain malformations. *Trends Mol Med.* 2011 Dec;17(12):734-42. doi: 10.1016/j.molmed.2011.07.008. Epub 2011 Sep 2. Review.
- <http://compbio.charite.de/phenomizer>
- Davies SM, Rackham O, Shearwood Am et Al: Pentatricopeptide repeat domain protein 3 associates with the mitochondrial small ribosomal subunit and regulates translation. 2009; 583: 1853-1858
- Des Portes V: X-linked Mental deficiency. *Handb Clin Neurol* 2013; 111: 297-306
- DSM-5 MANUALE DIAGNOSTICO E STATISTICO DEI DISTURBI MENTALI. Raffaello Cortina Editore, 2014, 5° edizione

- Durand CM, Betancur C, Boeckers TM et Al.: Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* 2007; 39: 25-7.
- Fombonne E: Epidemiological surveys of autism and other pervasive developmental disorders: An update. *J Autism Dev Disord* 2003; 33:365-82.
- Fombonne E: Epidemiology of autistic disorders and other pervasive developmental disorders. *J Clin Psychiatry* 2005;66: 3-8.
- Frye RE, Rossignol DA: Mitochondrial dysfunction can connect the diverse medical symptoms associated with autism spectrum disorders. *Pediatr Res* 2011; 69: 41R-47R
- Gauthier J, Siddiqui TJ, Huashan P et Al.: Truncating mutations in NRXN2 and NRXN1 in autism spectrum disorders and schizophrenia. *Hum Genet* 2011; 130: 563-73.
- Gillberg C, Wing L: Autism: Not an extremely rare disorder. *Acta Psychiatr Scand* 1999; 99: 399-406.
- Grafodatskaya D, Chung B, Szatmari P, Weksberg R.: Autism spectrum disorders and epigenetics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 794-809.
- Heil KM¹, Schaaf CP. *Curr Psychiatry Rep.* 2013 Jan;15(1):334. doi: 10.1007/s11920-012-0334-3. The genetics of Autism Spectrum Disorders--a guide for clinicians.
- Huidobro C, Fernandez AF, Fraga MF: The role of genetics in the establishment and maintenance of the epigenome. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 1543-73.
- www.human-phenotype-ontology.org
- Hussain MS¹, Battaglia A Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders. Yaping Yang et al *N Engl J Med* 2013; 369:1502-1511 October 17, 2013 DOI: 10.1056/NEJMoa1306555. "The American Journal Of Human Genetics" 2014 Nov 6;95(5):622-32. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.10.008. Epub 2014 Nov 6. ², et al.056/NEJMoa1306555).
- Islam S, Durkinms, Zaman SS: Socioeconomic status and the prevalence of mental retardation in Bangladesh. *Ment Retard* 1993;31: 412-7.
- Jamain S, Quach H, Betancour C et A.I: Mutations in the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat Genet* 2003; 34: 27-9
- Kaufman L, Ayub M, Vincebt JB: The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review. *J Neurodevelop Disord* 2010; 2: 182-209.
- Kleefstra T, Nillesen BAS, Yntema HG.: Kleefstra syndrome. *GeneReviews* 2010; <http://www.ncbi.nlm.gov/books>.

- Leblond CS, Heinrich J, Delorme R et Al.: Genetic and functional analyses of SHANK2 mutations suggest a multiple hit model of autism spectrum disorders. PLoS Genet 2012; 8: e1002521.
- Leonard H, Wen X: The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millenium. Men Retard Dev Disabil Rev 2002; 8: 117-34.
- Li j, Chen C, Lei X et Al: The NTSR1 gene modulates the association between hippocampal structure and working memory performance. Neuroimage 2013;75: 79-86
- Lintas C, Persico AM.: Autistic phenotypes and genetic testing: state-of-the-art 996 for the clinical geneticist. J Med Gen 2009; 46:1–8.
- Liu JS: Molecular genetics of neuronal migration disorders. Curr Neurol Neurosci Resp 2011; 11: 171-8.
- Manher,M. and M. Karys. What exactly are genomes/genotypes and phenotype? And what about phenomes? Journal of theoretical Biology 186:55-63. 1997
- Manning M and Hudgins L: Array-based technology and recommenndations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. Genet Med 2010; 12: 742-5.
- Mastropaolo C, Serra G, Demelas L: Il Ritardo mentale. in De Negri M: Neuropsichiatria dell'età evolutiva. Padova Piccin Editore 2004; 521-38.
- Maxam, A.M. and Gilbert, W *A new method for sequencing DNA.*. s.l. : PNAS, February 1977. *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.* Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, R.A. s.l. : PNAS, December 1977
- Mc Carroll SA, Kuruvilla EG, Korn JM et Al: Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. Nat genet 2008; 1166-74.
- Mefford HC, Batshaw ML, Hoffman EP: *Genomics, intellectual disability, and autism.* *N Engl J Med.* 2012; 366:733-43.
- Miller DT, Adam, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman A R, Carter N P, et al.: Consensus statement: Chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet, 2010; 86: 749–764.
- Nachtomy O. et al. Gene expression and concept of the phenotype. Stud Hist Philos Biol Biomed Sci. 2007 Mar; 38(1): 238-54
- OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> <http://www.omim.org>.
- www.orpha.net

- Phelan K, McDermid HE: The 22q13.3 deletion syndrome (Phelan-McDermid syndrome). *Mol Syndromol* 2012; 2:186-201
- Rauch A, Hoyer J, Guth S et Al.: Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A* 2006; 140: 2063-74.
- Roeleveld N, Zielhuis G, Gabreels F: The prevalence of Mental Retardation: a critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol* 1997; 39:125-32.
- Robinson. Deep Phenotyping for Precision Medicine.. Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany
For the Deep Phenotyping Special Issue. Received 27 February 2012; accepted revised manuscript 2 March 2012. Published online in Wiley Online Library (www.wiley.com/humanmutation).DOI: 10.1002/humu.22080
- Ropers HH¹ *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2010;11:161-87. doi: 10.1146/annurev-genom-082509-141640. Genetics of early onset cognitive impairment.
- Schaf CP, Boone PM, Sampath S et Al.: Phenotypic spectrum and genotype-phenotype correlations of NRZ1 exon deletions. *Eu J Hum Genet* 2012; 20: 1240-7.
- Serra G, Mastropaolo M: *L'epidemiologia del Ritardo mentale. Gior neuropsich Età Evoll* 2003; 23: 193-209.
- Shevell MS, Hashwal S, Donley D et Al.: Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology.* 2003; 60: 67-80.
- Shoukier M, Klein N, Auber B et Al.: Array CGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants? *Clin Genet* 2013; 83: 53-65.
- Stankiewicz P and Beaudet Al.: Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Current Opinions in Genetics and Development*, 2007; 17, 182–192.
- Stevenson RE, Procopio-Allen AM, Schroer RJ, Collins JS: Genetic syndromes among individuals with mental retardation. *Am J Med Genet A* 2003; 123A(1):29-32.
- Topper S, Ober C, das S: Exome sequencing and the genetics of intellectual disability. *Clin genet* 2011; 80: 117-26.

- Toriello HV: Approach to the genetic evaluation of the child with autism. *Ped Clin North America* 2012; 59:113–28.
- Tuchman R, Rapin I: Epilepsy in autism. *Lancet Neurol* 2002; 1: 352-8.
- Vaillend C, Poirier R, Laroche S: Genes, plasticity and mental retardation. *Behav Brain Res* 2008; 192: 88-105.
- Verloes A, Héron D, Billette de Villemeur T et Al.: Stratégie d’exploration d’une déficience intellectuelle inexplicée. *Archives de Pédiatrie* 2012; 19: 194-207.
- Vincent J, Anderlid BM, Lagerberg M et Al.: High-resolution molecular karyotyping in patients with developmental delay and/or multiple congenital anomalies in a clinical setting. *Clin Genet* 2011; 79: 147-57.
- [Vorstman, JAS](#); [Ophoff, RA](#). [Genetic causes of developmental disorders](#), Source: CURRENT OPINION IN NEUROLOGY; APR, 2013, 26 2, p128-p136, 9p.
- Yeargin-Allsopp M, Boyle C: Overview: the epidemiology of neurodevelopmental disorders. *MRDD Res Rev* 2002; 8: 113-6.
- Yokoyama K, Tezuka T, Kotani M et Al: NYAP. A phosphoprotein family that links PI3K to Wave 1 signalling in neurons. *EMBO J* 2011; 30: 4739-4754
- Zecavati N, Spence SJ: Neurometabolic disorders and dysfunction in autism spectrum disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009; 9: 129-36.



RINGRAZIAMENTI

Ringrazio tutti coloro che hanno camminato insieme a me.

Ringrazio tutti coloro che hanno saputo spronare quando il rischio era quello di abbandonare.

Ringrazio tutti coloro che hanno saputo apprezzare quel che è stato fatto.

Ringrazio tutti coloro che hanno saputo spiegare ciò che sembrava inspiegabile.

Ringrazio tutti coloro che hanno messo a disposizione tutta la loro professionalità e competenza.

Ringrazio tutti coloro che ci sono sempre stati, ci sono e ci saranno.

Per questo un grazie di cuore va a tutti coloro che hanno reso possibile questo lavoro, dimostrazione che dalla collaborazione di più teste non può che nascere qualcosa di grande.

L'ordine in cui vengono citate tutte le persone che hanno partecipato allo studio è dettato dalla sola esigenza grafica. Non vi è un ordine di importanza quando ognuno apporta il proprio contributo.

Per tutto questo, GRAZIE a:

Stefano Sotgiu, Gigliola Serra, Valentina Pes, Laura Crisponi, Andrea Angius,

Manuela Oppo, Stefano Onano, Paolo Uva, Ivana Persico.